

UNIVERSITÉ DE LYON

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE - N° 288

Travail des Laboratoires de Chimie Organique
et de Médecine Expérimentale et de la Clinique Médicale Infantile
du Professeur MOURIQUAND

Contribution à l'étude
des
modifications du pouvoir antiscorbutique
dans divers produits d'oxydation
de la vitamine C

THÈSE

POUR LE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE LYON

SECTION DE PHARMACIE

présentée et soutenue publiquement devant la Faculté de Médecine et de Pharmacie

Le 20 Avril 1939

PAR

Louis GUYOT

Né le 15 Mars 1914, à LEVROUX (Indre)



LYON

BOSC Frères M. & L. RIOU

IMPRIMEURS-ÉDITEURS

42, Quai Gailleton, 42

1939

**Contribution à l'étude
des modifications du pouvoir antiscorbutique
dans divers produits d'oxydation
de la Vitamine C**



Digitized by the Internet Archive
in 2026

UNIVERSITÉ DE LYON

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE - N° 288

Travail des Laboratoires de Chimie Organique
et de Médecine Expérimentale et de la Clinique Médicale Infantile
du Professeur MOURIQUAND

Contribution à l'étude
des
modifications du pouvoir antiscorbutique
dans divers produits d'oxydation
de la vitamine C

THÈSE

POUR LE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE LYON

SECTION DE PHARMACIE

présentée et soutenue publiquement devant la Faculté de Médecine et de Pharmacie

Le 20 Avril 1939

PAR

Louis GUYOT

Né le 15 Mars 1914, à LEVROUX (Indre)



LYON

BOSC Frères M. & L. RIOU

IMPRIMEURS-ÉDITEURS

42, Quai Gailleton, 42

1939

PERSONNEL DE LA FACULTE

Doyen honoraire	M. L. HUGOUNENQ
Doyen	M. J. LEPINE.
Assesseur	M. A. MOREL

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. LANNOIS, HUGOUNENQ, PIC, CONDAMIN,
PAVIOT, NICOLAS, VILLARD,, NOVE-JOSSERAND, TIXIER, COLLET, GAYET, CLUZET

PROFESSEURS

Cliniques médicales	}	MM. FROMENT
Cliniques chirurgicales		SAVY.
Clinique obstétricale et Accouchements	}	PATEL.
Clinique ophtalmologique		BERARD.
Cliniques dermatologique et syphiligraphique		VORON.
Clinique neurologique et psychiatrique ..		BONNET.
Clinique médicale infantile		FAVRE.
Clinique gynécologique.....		LEPINE (J.)
Clinique Oto-rhino-laryngologie		MOURIQUAND
Clinique urologique.....		COTTE.
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie		REBATTU.
Clinique et prophylaxie de la tuberculose		CIBERT.
Clinique des maladies infectieuses		FAVERNIER.
Physique biologique, Radiologie et Physiothérapie		COURMONT
Chimie biologique et médicale		J. CHALIER
Chimie organique et Toxicologie		PONTHUS.
Matière médicale et Botanique		FLORENCE
Parasitologie et Histoire naturelle médicale		MOREL
Anatomie		MANCEAU
Histologie		GUIART.
Physiologie		LATARJET
Pathologie interne		POLICARD.
Pathologie générale et thérapeutique		HERMANN.
Anatomie pathologique		CORDIER.
Chirurgie opératoire		CADE.
Médecine expérimentale et comparée et Bactériologie		J.-F. MARTIN.
Médecine légale		SANTY.
Hygiène		ARLOING (F.)
Pharmacie et Pharmacologie		Etienne MARTIN
Hydrologie thérapeutique et Climatologie		ROCHAIX.
		LEULIER.
		PIERY.

PROFESSEURS TITULAIRES SANS CHAIRE

Chargé d'un cours d'Anatomie médico-chirurgicale	MM. THEVENOT (Léon)
Chargé d'un cours d'Embryologie	NOEL.

AGREGES

MM.	MM.	MM.	MM.
GABRIELLE	GUILLEMINET	DE ROUGEMONT	MORIN
DECHAUME	MORENAS	P. RAVAUlt	BERTRAND
BERNHEIM	REVOL	PIGEAUD	CLAVEL
POLLOSSON	ENSELME	CROIZAT	LEVRAI
CHAMBON	SEDALLIAN	DELORE	
EPARVIER	CREYSSSEL	JOSSERAND	

EXAMINATEURS DE LA THESE

MM. MOREL, *président* ; MOURIQUAND, *assesseur* ;
CHAMBON et REVOL.

La Faculté de Médecine de Lyon déclare que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend leur donner ni approbation ni improbation.

A LA MEMOIRE DE MON PERE

Disparu à Neuville-Saint-Wast, le 14 juin 1915

Son souvenir vénéré est en moi comme l'image exemplaire de tout devoir et de toute bonté.

A LA MEMOIRE DE MES GRANDS-PARENTS

A MA MERE

Infiniment reconnaissant de toute la tendresse dont elle a entouré mes jeunes années et des grands sacrifices qu'elle a consentis à mon égard, je lui dédie ce modeste travail, faible témoignage de ma bien vive affection.

A MA SŒUR

A MA FIANCEE

A TOUS CEUX QUI ME SONT CHERS

A MON PRESIDENT DE THESE

MONSIEUR LE PROFESSEUR A. MOREL

Professeur de Chimie organique et de Toxicologie
Membre Correspondant de l'Académie de Médecine
Officier de la Légion d'Honneur

A MES JUGES

MONSIEUR LE PROFESSEUR G. MOURIQUAND

*Professeur de Clinique Médicale Infantile
Officier de la Légion d'Honneur*

MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ M. CHAMBON

Pharmacien des Hôpitaux

MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ L. REVOL

Pharmacien des Asiles

A MES MAITRES DE LA FACULTE DE MEDECINE
ET DE PHARMACIE
ET DES HOPITAUX DE LYON

A MES CAMARADES DE L'INTERNAT
EN PHARMACIE

A MES AMIS

AVANT-PROPOS

Avant d'aborder l'exposé de notre travail, notre premier devoir est d'exprimer nos remerciements à tous ceux qui nous ont aidé et soutenu dans l'acquisition de nos connaissances scientifiques, qui font de nous, aujourd'hui, un Pharmacien.

Nous nous inclinons d'abord avec un profond respect devant la mémoire de notre Maître de stage, M. Gacon, Docteur en Pharmacie.

A la Faculté et dans les Hôpitaux, nous avons trouvé des maîtres dévoués dont nous avons pu apprécier l'enseignement et qui nous ont toujours prodigué leurs encouragements.

M. le Professeur A. Morel a bien voulu, au cours de nos études, nous accueillir dans son laboratoire. En acceptant de présider notre jury de thèse, il nous donne une nouvelle preuve de sa bienveillance. Qu'il daigne nous permettre de lui adresser avec l'expression de notre reconnaissance la plus profonde, nos sincères remerciements.

M. le Professeur G. Mouriquand nous a reçu dans son laboratoire et nous a fait l'honneur de diriger notre expérimentation. Ses conseils nous furent très précieux, comme ses idées directrices claires et précises. Nous prions ce Maître d'accepter notre sincère gratitude.

M. le Professeur Agrégé M. Chambon a été notre Maître à la Faculté et dans les Hôpitaux. Il nous a aidé dans l'acquisition délicate des connaissances de la chimie biologique et a su nous inculquer des idées de précision et des principes d'ordre qui nous seront très utiles au cours de notre carrière. Qu'il accepte nos remerciements et l'assurance de notre profond attachement.

M. le Professeur Agrégé L. Revol accepte aujourd'hui d'être notre juge. C'est une nouvelle marque de sympathie qu'il veut bien nous témoigner et à laquelle nous sommes particulièrement sensible. Nous devons beaucoup à ce maître qui nous a toujours entouré d'une bienveillante sollicitude. Il nous est particulièrement agréable de pouvoir le remercier ici et l'assurer de notre profonde reconnaissance.

Nous ne saurions oublier l'intérêt que portèrent à nos travaux MM. les Professeurs Arloing et Josserand. Nous les en remercions vivement.

Nous n'omettrons pas de remercier nos maîtres, les Pharmaciens-Chefs des Hôpitaux, ainsi que tous nos camarades pour l'aide qu'ils nous ont apportée dans l'exécution de ce travail, principalement J. Ehrwein, Pharmacien, Interne des Hôpitaux de Lyon, qui en a accompli la dernière expérimentation.

Notre tâche ne serait pas terminée si nous n'adressions à nos camarades de l'Internat en Pharmacie : Mlle L. Tissier et MM. F. Paulant, M. Ferrand, F. Simon, nos remerciements les plus cordiaux auxquels nous joignons l'assurance de notre bonne amitié.

Contribution à l'étude des modifications du pouvoir antiscorbutique dans divers produits d'oxydation de la Vitamine C

INTRODUCTION

Ce travail est la suite des recherches effectuées depuis plusieurs années par MM. les Professeurs A. Morel, Arloing et Josserand sur les essais de Chimiothérapie anticancéreuse par action des sels complexes des acides l-ascorbique (vitamine C), déhydrascorbique et dicéto-gulonique.

Ayant déjà constaté l'action antitumorale de divers extraits surrénaux, puis de protéines surrénaliennes précipitées par le perchlorure de fer, sur l'évolution des cancers greffés de la souris blanche, ces auteurs furent amenés à penser, après la découverte de l'acide ascorbique (vitamine C) dans les surrénales par Szent-Györgyi, que l'activité de leurs extraits était liée à la formation de complexes fer-ascorbiques.

Ces produits préparés à partir de l'acide l (+) ascorbique, extrait d'abord par eux des surrénales, puis industriel, administrés à l'animal puis à l'homme, montrèrent une action frénatrice sur les tumeurs (2 à 10).

La constitution chimique de ces produits fut supposée, après plusieurs essais, être celle de l'acide ascorbique ou de son premier dérivé d'oxydation : l'acide déhydrascorbique, sur la chaîne desquels se seraient substitués le fer ou autres métaux ou des bases azotées.

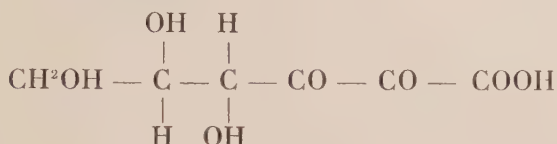
Ces essais n'étaient pas suffisants pour montrer qu'il n'y avait pas eu rupture de la molécule. C'est pourquoi, M. le Professeur A. Morel fit rechercher si ces complexes avaient conservé l'activité antiscorbutique des corps dont ils dérivent. Ces recherches furent effectuées sous la conduite d'un expérimentateur habitué à dépister les symptômes du scorbut, M. le Professeur G. Mouriquand, qui, dans son service de clinique infantile de l'Hôpital Edouard-Herriot, a organisé les moyens pour étudier tout ce qui concerne les vitamines.

Notre confrère, Mlle S. Armand, ayant pris ce sujet pour sa thèse de Doctorat en Pharmacie [1], a trouvé une diminution légère du pouvoir antiscorbutique dans les premiers complexes qui lui avaient été confiés ; ce fait prouvant une conservation de la constitution stéréochimique nécessaire à la manifestation de ce pouvoir.

MM. Morel, Arloing et Josserand, ayant reconnu que, dans leurs premiers produits, il devait rester dans les uns une certaine proportion d'acide ascorbique, dans les autres le premier produit d'oxydation de ce biénol (acide déhydrascorbique), pensèrent que, pour éviter la présence de ces deux substances susceptibles de passer dans l'organisme à l'état de sels de

l'acide ascorbique, (leurs expériences confirmées par celles d'autres chercheurs avaient semblé favoriser le développement des tumeurs), il était indiqué de préparer des sels complexes à partir d'une substance ne pouvant pas donner lieu à cette rétrogradation.

Ils ont fait choix pour cela de l'acide déhydrascorbique à anneau lactonique ouvert ou acide 2 - 3 - diceto - 1 - gulonique :



que les travaux de Haworth et Hirst avaient montré être presque complètement dépourvu de pouvoir antiscorbutique et de possibilité de retour à l'acide ascorbique sous l'action d'agents réducteurs constants tels que l'hydrogène sulfuré. C'est ce corps organique et ses complexes ferrico-sodiques préparés par eux, qu'ils nous ont chargé d'étudier du point de vue de la recherche de la conservation ou de la disparition du pouvoir antiscorbutique. En plus, nous avons comparé ces nouveaux produits avec quelques-uns de ceux qu'ils avaient préparés ultérieurement (1937) à partir des acides ascorbique et déhydrascorbique.

Les effets de ces sels complexes, surtout de ceux qui sont préparés à partir de l'acide déhydrascorbique à anneau lactonique ouvert, sur certains éléments cliniques du développement des tumeurs, ont fait récemment l'objet d'une communication à l'Académie de Médecine par MM. L. Bérard, A. Morel, F. Arloing, A. Josseland et L. Perrot [13].

La constatation de la disparition complète du pouvoir antiscorbutique dans les sels complexes [13], est un fait intéressant pour montrer que leur but de s'écarter de dérivés immédiats de l'acide ascorbique, dans leurs préparations actuelles, a été atteint.

PLAN DU TRAVAIL

PREMIÈRE PARTIE

Chapitre Premier : Le Scorbut : a) de l'adulte ;
b) infantile.

Chapitre II : Le Scorbut expérimental :
a) Scorbut aigu;
b) Scorbut chronique.

Chapitre III : La Vitamine C.

Chapitre IV : Découverte et identification de l'acide ascorbique.

Chapitre V : Constitution chimique de l'acide ascorbique.

Chapitre VI : Acide déhydrascorbique.

DEUXIÈME PARTIE

Chapitre Premier : Conditions générales des expériences.

Chapitre II : Etude du pouvoir antiscorbutique du complexe A II.

Chapitre III : Etude du complexe AA II.

Chapitre IV : Etude du pouvoir antiscorbutique des produits R A : 1037 et 1038.

Chapitre V : Etude du pouvoir antiscorbutique des produits A O B et A O B N.

Chapitre VI : Etude du pouvoir antiscorbutique des produits A O B juxta et A XX.

Conclusions.

Bibliographie.

PREMIÈRE PARTIE

CHAPITRE PREMIER

LE SCORBUT

On distingue le scorbut de l'adulte et le scorbut infantile, à côté desquels se rangent des états mal définis appelés « préscorbutiques » [69].

I. — Le Scorbut de l'adulte

Le scorbut, connu depuis l'Antiquité, fut appelé par Jean de Joinville « la maladie de l'Ost ». Il fut décrit par J. Eclitius, au milieu du xvr^e siècle, qui divisait déjà les symptômes en deux catégories : ceux du début et ceux du mal confirmé. Une couleur pâle et jaunâtre du visage et des douleurs caractéristiques aux membres inférieurs étaient considérées comme les tout premiers signes du scorbut.

Mme L. Randoin [81] nous dit que les auteurs reconnaissaient « trois stades dans l'évolution de la maladie : le scorbut commençant, le scorbut confirmé et le scorbut invétéré ».

On peut décrire ces trois périodes de la manière suivante :

Au début, on note une adynamie musculo-nerveuse, la décoloration des muqueuses, une bouffissure du visage ; les malades sont tristes. Une sensation d'angoisse et de l'anémie font leur apparition ainsi que des lésions cutanées (piqueté scorbutique). A ces lésions, se surajoute de la stomatite gengivale. Enfin, un début d'amaigrissement.

Le second stade est caractérisé par l'ulcération de plus en plus marquée des gencives. Les ecchymoses font leur apparition aux membres inférieurs, les indurations forment des sortes de tumeurs dures à la palpation. Les membres deviennent douloureux au toucher et il se produit un œdème augmentant avec la marche.

Les symptômes de la dernière période sont très rares de nos jours, car ils marquent un trouble profond de la nutrition. Ils se manifestent par des ulcères, des nécroses osseuses, des hémorragies viscérales. Une dégénérescence générale de l'organisme survient, souvent accompagnée d'accidents dysentériques.

II. — Le Scorbut infantile

Ce ne fut seulement qu'en 1856, qu'un professeur de Königsberg, Moller, signala une maladie chez les enfants de 6 à 18 mois, caractérisée par des douleurs avec tuméfactions des membres inférieurs. Il l'appela rachitisme aigu. Puis Galland [35] et Ingerslew [53], dès 1871, appelèrent cette maladie *scorbut infantile*. De nos jours, il est plus connu sous le nom de maladie

de Barlow [12], du nom du médecin, qui, en 1883 mit au point son étiologie. Le diagnostic se fonde sur les symptômes suivants :

L'enfant pâle présente des troubles gastro-intestinaux, des douleurs des membres inférieurs avec gonflement des articulations. Bientôt les os ont des lésions caractéristiques, principalement au niveau des épiphyses, ce qui est la cause de fractures fréquentes. Lorsque l'enfant a des dents, on voit apparaître des lésions buccales (gonflement des gencives, même des hémorragies). A l'autopsie, on trouve des hémorragies dans les viscères, la moelle des os, qui toutefois sont moins nettes que chez l'adulte.

A côté de ces manifestations évidentes, il existe les états préscorbutiques mal définis mais fréquents « caractérisés par de l'anémie et de l'asthénie générale avec ou sans paraisie » [75]. De nombreux cas furent observés chez des enfants alimentés depuis de longs mois par des laits stérilisés et conservés, présentant une courbe de poids normale, mais évoluant vers la dystrophie. Ces états furent désignés par Weill et Mouriquand sous le nom de « précarence » [68-94].

CHAPITRE II

LE SCORBUT EXPERIMENTAL

Théobald Smith, en 1835, avait observé que des cobayes, nourris à l'avoine et à l'eau, contractaient une étrange maladie caractérisée par d'abondantes hémorragies suivies de mort. Holst et Fröhlich [52], chargés par le bureau d'hygiène de Christiana d'une enquête sur l'alimentation des marins norvégiens, effectuèrent leurs expérimentations sur des cobayes nourris avec du blé ; ils obtinrent une affection semblable au scorbut des marins ; leurs animaux, présentant une dénutrition très marquée, mourraient vers le 25^e jour. Leurs expériences furent reprises par de nombreux expérimentateurs [14, 18, 19, 39, 52, 62, 92]. Toutes les remarques des premiers ne furent pas confirmées. Ainsi Tozer [92] d'une part, MM. Mouriquand, Michel et Barré [76, 77] d'autre part, constatèrent l'amaigrissement très accentué du début de carence.

De nos jours, nous pouvons différencier 2 cas : le scorbut aigu et le scorbut chronique.

A. — Scorbut aigu

Il est caractérisé chez le cobaye par les symptômes suivants : Pendant les six premiers jours, on ne remarque rien d'anormal, puis apparaît une excitation particulière avec polyurie. Le poids augmente jusque vers les 18^e ou 20^e jours, puis se maintient en plateau. Les articulations des membres postérieurs, et parfois antérieurs, se tuméfient un peu, deviennent douloureuses à la pression. Ces phénomènes ostéo-articulaires vont en s'accroissant, le moindre palper fait pousser des cris à l'animal, on sent facilement une sorte de crépitation neigeuse. Vers le 22^e jour, en moyenne, l'appétit décroît, l'animal entre dans un état de somnolence, se ramasse en boule, le poil hérissé et malpropre et des croûtes se montrent au niveau du nez. Bientôt la diarrhée survient avec selles sanguinolentes ; les tuméfactions régressent légèrement et la mort survient au milieu d'une cachexie profonde vers le 30^e jour.

A l'autopsie, on constate des hémorragies viscérales et intra-musculaires et la fragilité des os. Le tissu osseux est raréfié, surtout au niveau des épiphyses, les alvéoles spongieuses forment un lac rougeâtre, enfin les cartilages articulaires et costaux sont violacés. Quant à l'acide ascorbique des surrénales, il a presque totalement disparu ; la réaction de Giroud et Leblond [38, 43] est négative ; le dosage donne un chiffre de quelques centièmes de milligrammes pour le poids total des surrénales.

En étudiant de plus près cette carence expérimentale, on peut y distinguer deux phases : la phase eutrophique et la phase dystrophique, séparées par une phase intermédiaire où commence le déséquilibre général.

La phase eutrophique, période d'appétit, de croissance, occupe environ les vingt premiers jours. On la divise au point de vue clinique en période de précaarence et période de carence affirmée. La première débute par une dystrophie asymptomatique dite encore inapparente car l'examen minutieux ne révèle aucun symptôme. La quantité d'acide ascorbique est déjà en baisse dans le foie et les surrénales [93]. Un stade de dystrophie fruste succède ensuite, décelable par de légères douleurs au niveau du fémur.

La période de carence affirmée est, pour le cobaye, la phase douloureuse des tuméfactions, celle des graves hémorragies musculaires ; malgré la présence de ces grossés lésions, la croissance continue presque normale jusqu'au 20^e jour environ.

Entre la phase eutrophique et la phase dystrophique existe une phase intermédiaire de quelques jours, au cours de laquelle la croissance s'arrête et s'installe en plateau pondéral. Pendant ce court laps de temps, les signes de carence sont très nets.

La phase dystrophique s'amorce vers le 24^e jour et avec elle les processus d'inassimilation ; elle est caractérisée par l'inappétence des animaux ; les tuméfactions semblent diminuer mais la cachexie s'accélère. Le principe réducteur a presque totalement disparu de la surrénale. A un certain moment s'installe

une diarrhée qui marque l'entrée dans un stade d'incurabilité totale, un stade préagonique. C'est au cours de cette phase dystrophique que l'on rencontre les troubles bio-chimiques décrits par M. Mouriquand et ses collaborateurs.

Notons que Demole [22 bis] dont on connaît les très nombreux travaux, a trouvé au cours de ses nombreuses recherches sur l'action préventive de l'acide l-ascorbique les chiffres que nous reproduisons dans le tableau ci-contre :

Dose journalière per os en mgr.	Résultats	Autopsie	Poids des surrénales	Ac. ascorbique en mgr. pour 100 gr de glandes
1	protection	normale	0,16	4,95
0,50	protection incomplète	léger scorbut	0,17	3,76
0,375	» »	scorbut	0,17	3,58
0,25	inactif	»	0,22	2,9

B. — Scorbut chronique

Il fut réalisé dès 1921 par Mouriquand et Michel [75] pour mieux rapprocher le scorbut de l'homme du scorbut du cobaye. Ces auteurs obtinrent au bout de deux mois et demi, par adjonction au régime scorbutigène de 10 cc. de jus de citron stérilisé une heure et demie à 120°, des lésions scorbutiques typiques avec conservation de l'état général. C'est donc la phase eutrophique qui se trouve prolongée pendant un temps plus ou moins long. Cette création d'un véritable « terrain scorbutique chronique » a d'ailleurs permis à ces auteurs de poursuivre toute une série d'expériences

que l'évolution du scorbut aigu interdit. Depuis, des recherches récentes ont permis de réaliser cette carence eutrophique [78] dans des cas bien déterminés :

1° par l'emploi du jus de citron cru ou stérilisé et conservé ;

2° par l'emploi de doses adéquates d'acide ascorbique ;

3° par l'état de gestation chez le cobaye femelle [74-80] ;

4° par l'emploi de dérivés de l'acide ascorbique de MM. Morel, Arloing, Josserand [71].

Souvent, pendant cette carence eutrophique, très souvent réalisée, de grosses lésions ostéo-hémorragiques furent notées sans atteinte ou avec atteinte retardée de l'état général et pondéral. Le scorbut paraît donc d'autant plus accentué dans ses manifestations que la courbe pondérale continue son ascension ou tout au moins sa stagnation.

Ce type d'expérience fut poussé très loin et on nota vers le 100^e jour de la carence, à côté des lésions ostéo-hémorragiques, une ankylose progressive des articulations du genou et des coxo-fémorales, interdisant le jeu des membres postérieurs. L'examen clinique de ces articulations permit de constater leur raideur, siège d'une ankylose totale ou subtotale. La radiographie montre un aspect « soufflé » des diaphyses fémorales avec épaissement périostique, décalcification des têtes des fémurs et des tibias. Ce syndrome de rhumatisme ankylosant [79], paraissant lié à une carence partielle de vitamine C, semble à un moment donné difficilement réversible, alors que les lésions

scorbutiques hémorragiques qui l'accompagnent, gardent leur réversibilité vis-à-vis du facteur anti-scorbutique.

Signalons qu'à cause de la « spécificité » des lésions, puis de leur « irréversibilité », M. Mouriquand [70] appelle certaines formes d'avitaminoses du terme de « paravitaminoses ».

CHAPITRE III

LA VITAMINE C

Depuis longtemps on s'était aperçu que le scorbut était une affection fréquente chez les marins et les soldats.

Était-ce une maladie contagieuse ? Cette hypothèse fut combattue dès le ^{xvii}^e siècle par un Français Nicolas Venette, qui, notant l'absence de végétaux frais dans l'alimentation et la présence de scorbut, vit là une relation très importante. Elle fut vérifiée au siècle suivant par deux savants étrangers. Puis vint la communication à l'Académie de Médecine, du médecin de la Marine Le Roy de Méricourt, soutenant cette même thèse.

Toutefois, l'idée de contagion ne fut exclue que très lentement par tous les auteurs.

Au ^{xix}^e siècle, lorsque Th. Barlow identifia le scorbut infantile, on remarqua que la cause en était l'absence d'aliments frais dans la nourriture des enfants, par suite d'un usage exagéré de farines spéciales pour bébés trop purifiées et de la conservation du lait stérilisé mal comprise.

L'expérimentation montra que cette carence en

aliments frais communiquait au cobaye une maladie identique à celle observée chez l'homme et appelée « scorbut expérimental ».

A quel principe contenu dans les végétaux frais était dû le pouvoir antiscorbutique ? Des recherches faites sur le jus de citron laissèrent planer longtemps des suppositions sur la substance antiscorbutique. Holst et Fröhlich [51], recherchant les aliments en contenant, le cobaye étant leur animal d'expérience, déterminèrent certaines propriétés physiques de la substance.

Dès 1912, Funk la classa parmi « les Vitamines ».

Puis en 1918, on reconnut le scorbut comme appartenant au groupe des « maladies par carence » et l'on dénomma la substance antiscorbutique « *Vitamine C* ».

CHAPITRE IV

DECOUVERTE ET IDENTIFICATION DE L'ACIDE ASCORBIQUE

Les recherches en vue de l'isolement du principe antiscorbutique ont été poursuivies pendant plusieurs années par différents auteurs : Zilva (1928), Bezssonoff, King (1931) et leurs collaborateurs. Tous avaient remarqué un très fort pouvoir réducteur des extraits végétaux et tentèrent d'en extraire la vitamine. Zilva avait émis l'hypothèse que cette substance fortement réductrice était un facteur de protection pour la vitamine ; Bezssonoff interpréta ces résultats comme la démonstration du fait que la vitamine était un facteur double ou triple composé d'un phénol, d'un sucre réducteur, d'un acide organique. Les auteurs avaient également été frappés de la facilité de destruction de la vitamine sous l'influence d'une oxydation ménagée.

C'est Tillmanns [91] qui, le premier en 1932, fit remarquer l'étroite corrélation entre la valeur antiscorbutique des aliments et leur pouvoir quantitatif vis-à-vis d'un indicateur d'oxydo-réduction : le 2 - 6 dichlorophénol-indophénol.

La première identification et caractérisation de la Vitamine sont signalées par King et Waagl [59]. Ces

auteurs sont parvenus à isoler du jus de citron, sous forme de combinaison plombique, des cristaux d'une substance correspondant comme forme, point de fusion, caractère de solubilité, acidité, pouvoir rotatoire et composition centésimale à l'acide hexuronique que Szent-Györgyi [88] en 1928 avait isolé de la feuille de chou, de l'orange et des capsules surrénales et qu'il avait étudié en temps que « facteur respiratoire ». Ce même auteur et Svirbely [87] avaient d'ailleurs constaté que l'acide isolé des surrénales jouissait également de propriétés antiscorbutiques.

A la même époque, Rygh [85] et ses collaborateurs identifiaient la vitamine C, comme étant la méthyl-nornarcotine. Leur hypothèse fut rapidement reconnue comme erronée. Il est actuellement démontré d'une manière sûre qu'il n'existe aucune relation entre la narcotine et la vitamine C.

En peu de temps, un certain nombre de publications vinrent confirmer l'identité véritable de cette vitamine comme étant une substance unique, un acide à 6 atomes de C du groupe des sucres.

Une étape importante dans l'histoire de la vitamine C fut la préparation du dérivé monoacétonique par Szent-Györgyi qui permit une purification indépendante et le retour à la vitamine originale sans perte d'activité antiscorbutique. Le biochimiste hongrois a été alors autorisé à lui donner, en collaboration avec Haworth, le chef de l'Ecole d'étude des sucres de Birmingham qui avait étudié la constitution chimique de la substance préparée et à lui remise par Szent-Györgyi, le nom d'*acide ascorbique*.

CHAPITRE V

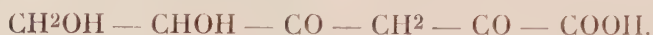
CONSTITUTION CHIMIQUE DE L'ACIDE L-ASCORBIQUE

Szent-Györgyi qui, le premier, avait découvert l'acide ascorbique dans les surrénales, lui avait donné comme formule brute $C^6H^8O^6$ et comme constitution celle d'un acide à fonction aldéhyde et à fonction polyalcool, c'est-à-dire celle d'un acide uronique. Cette constitution, à la suite des études de l'Ecole de Birmingham, c'est-à-dire de Haworth, Hirst et leurs collaborateurs, et aussi de Karrer à l'Université de Zurich, et encore de Micheel et de son collaborateur Kraft, fut reconnue inexacte.

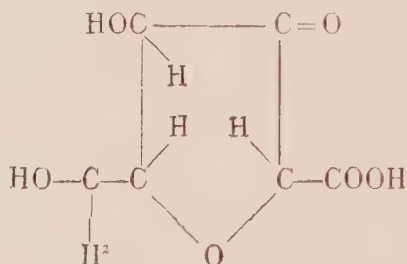
Haworth, Hirst et Cox la préparèrent synthétiquement à partir de la xylosone et inclinèrent d'abord vers la structure représentée par :



tandis que Karrer et ses collaborateurs plaident pour cette autre formule :



Plus récemment, Micheel et Kraft [67] défendirent l'existence d'une structure hétérocyclique en revenant à l'idée d'un furanose dans lequel un des oxygènes formait le pont entre deux C.

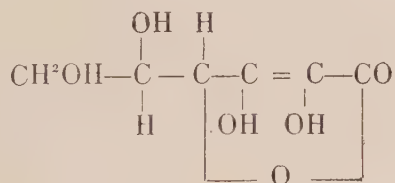


Mais l'école de Birmingham n'accepta pas cette formule parce qu'elle ne s'accorde pas avec les résultats des recherches cristallographiques faites sur l'acide ascorbique : les diagrammes des rayons X plaident en faveur d'une molécule plus condensée.

A partir de 1933, Hirst à Birmingham arriva à douter de l'existence d'un groupement fonctionnel acide COOH . Cette manière de voir fut confirmée par les nouveaux travaux de Micheel et Kraft [67] qui montrèrent l'absence de ce groupement fonctionnel acide et l'existence d'une fonction lactone résultant de l'éthérification interne du groupement COOH et d'un

des groupements alcool situé en position 4 ou en position 5 par rapport à lui.

Un mémoire très complet de Haworth et Hirst [44] et de leurs collaborateurs, détaillant l'ensemble des propriétés de l'acide l-ascorbique et de quelques-uns de ses dérivés arriva à établir la constitution admise à leur suite par Karrer, par Reichstein, par Micheel et après eux par tous les chimistes et tous les biologistes :



pour l'acide ascorbique qu'on appelle désormais acide l-ascorbique pour faire ressortir sa constitution stéréochimique dans laquelle le cinquième atome de carbone à partir de CO a une configuration gauche.

Voici leurs principaux arguments :

L'acide l-ascorbique se comporte comme un acide organique faible donnant des dérivés métalliques neutres $\text{C}_6\text{H}_7\text{O}_6\text{Me}$ auxquels on conserve le nom impropre de sels donné par Szent-Györgyi.

Le pouvoir réducteur extraordinairement fort et la réduction du permanganate en milieu acétonique montrèrent la présence d'au moins un atome de carbone capable d'énolisation, dont l'existence est encore démontrée par la réaction avec la phénylhydrazine qui donne facilement un dérivé cristallin, rouge, et surtout par l'étude du spectre d'absorption

dans l'U. V. qui ressemble à celui donné par beaucoup de substances cétoniques labiles.

Les réactions colorées données par l'addition de chlorure ferrique aux solutions aqueuse de sels alcalins de l'acide ascorbique (coloration violette) et par le nitro-prussiate de soude apportent une confirmation à la supposition de cette constitution énolique.

L'acide ascorbique ne recolore pas le réactif de Schiff ; il ne doit donc pas présenter de groupement fonctionnel aldéhydique.

L'acide ascorbique engendrant par l'acide chlorhydrique bouillant du furfuraldéhyde quantitativement, il en découle que cinq au moins des six atomes de carbone sont dans une chaîne non ramifiée. Les indications sur la structure de l'acide l-ascorbique découlent d'études quantitatives sur son comportement vis-à-vis des agents d'oxydation. Deux étapes bien définies marquent le cours de l'oxydation. Si la substance est oxydée par l'iode en solution acide, deux atomes d'iode sont utilisés et deux molécules d'acide iodhydrique sont libérées durant la réaction. L'iode a pour effet d'ajouter deux OH sur la double liaison. L'intervention de l'eau est essentielle. Le produit nouvellement formé donne une absorption sélective peu étendue et ne donne plus de furfuraldéhyde avec l'acide chlorhydrique. Il a un caractère neutre et se comporte vis-à-vis de l'eau et des alcalins comme la lactone d'un hydroxy-acide monobasique. Aucune désintégration de la molécule n'a lieu pendant cette étape

d'oxydation d'autant plus que le produit peut être converti quantitativement en acide ascorbique par les agents réducteurs tels que l'hydrogène sulfuré et l'acide iodhydrique.

Ces observations démontrent clairement qu'il n'y a pas de groupe carboxyle libre dans l'acide ascorbique et que les propriétés acides sont dues à la présence d'un COH activé situé près du carbonyle. Le groupement réactionnel sera du type : — COH = COH — donnant par oxydation en présence d'eau :

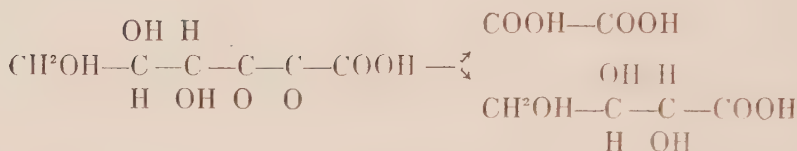
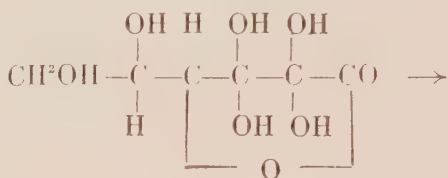


Un tel système est présent dans l'acide déhydroxymaléique. Il est d'un intérêt spécial que ce dernier acide réagisse en solution acide avec deux atomes d'iode en donnant l'acide déhydroxytartrique, lequel peut être entièrement réduit par l'hydrogène sulfuré. Pendant l'oxydation, la bande d'absorption intense de l'acide déhydroxymaléique qui ressemble à celle de l'acide ascorbique disparaît et le produit n'a plus d'absorption sélective.

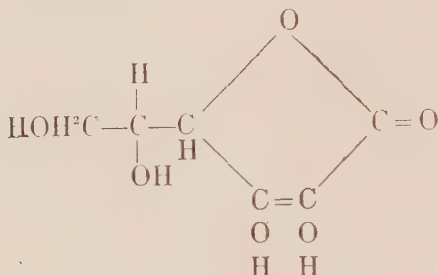
Une même analogie peut être étendue au sujet de l'existence de deux groupes énoliques par réaction du diazométhane.

Le premier produit d'oxydation de l'acide ascorbique possède encore le pouvoir réducteur notamment en solution alcaline et, par traitement avec une solution alcaline d'hypoiodite, il fixe un atome d'oxygène,

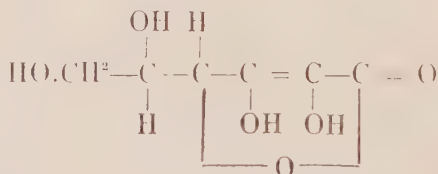
étant transformé quantitativement en acide oxalique et acide trihydroxybutyrique.



Finalement, les auteurs adoptent comme formule de l'acide l-ascorbique.

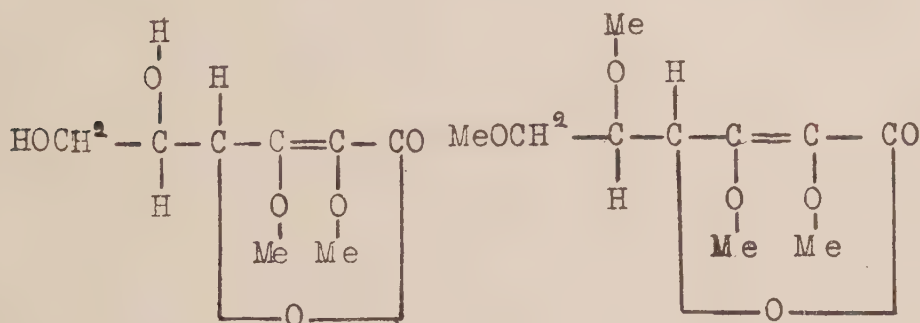


ou mieux, pour faire ressortir la constitution stéréochimique avec le cinquième atome de carbone à configuration gauche :

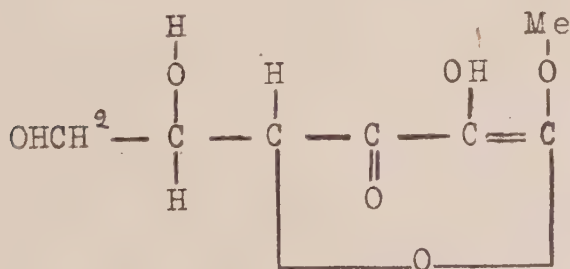


qui est celle actuellement admise [54].

L'étude des dérivés de méthylation obtenus par action du diazométhane permet à Hirst et à ses collaborateurs d'établir pour la constitution du dérivé diméthylé et pour celle du dérivé tétraméthylé, les formules suivantes qui vinrent confirmer l'exactitude de la formule indiquée plus haut pour l'acide l-ascorbique.

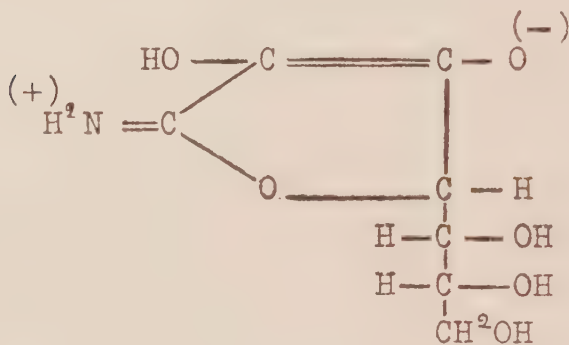


Ces éthers méthyliques ont une structure cyclique [42]. Quant au sel de sodium de l'acide ascorbique, il la possède indiscutablement et il n'est pas formé par l'ouverture de l'anneau lactonique ; mais on est forcé d'admettre, qu'en fait, il doit être un dérivé de la modification tautomérique avec la structure suivante :



car le groupe le plus acide est situé en C, mais l'évi-

dence tirée par les études polarimétriques sur l'acide imino-gluco-ascorbique :



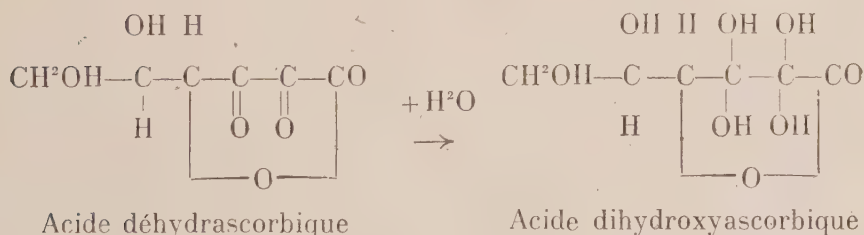
s'oppose à une telle affirmation puisque la fonction imino est susceptible de supporter une fonction de sel interne. La présence d'un ion négatif sur C 1 est par ce moyen réglée en dehors, et la plus vraisemblable explication du pouvoir rotatoire élevé de l'ascorbate de sodium doit être qu'à l'état ionisé, une fois que le proton est enlevé du C 3, la molécule peut assumer un état mésomérique.

CHAPITRE VI

ACIDE DEHYDRASCORBIQUE

I. — Constitution de l'acide déhydrascorbique existant à l'état d'acide dihydroxyascorbique dans l'eau

La constitution de l'acide déhydrascorbique existant à l'état d'acide dihydroxyascorbique dans l'eau se représente ainsi :



La constitution de ces corps a été établie par l'Ecole de Birmingham dont le mémoire de Herbert, Hirst, Percival, Reynolds et Smith [46] relate les travaux de la manière suivante :

Il a été brièvement mentionné que si cette substance est nouvellement formée, elle est neutre comme réaction et elle ne possède pas de trace de l'intense

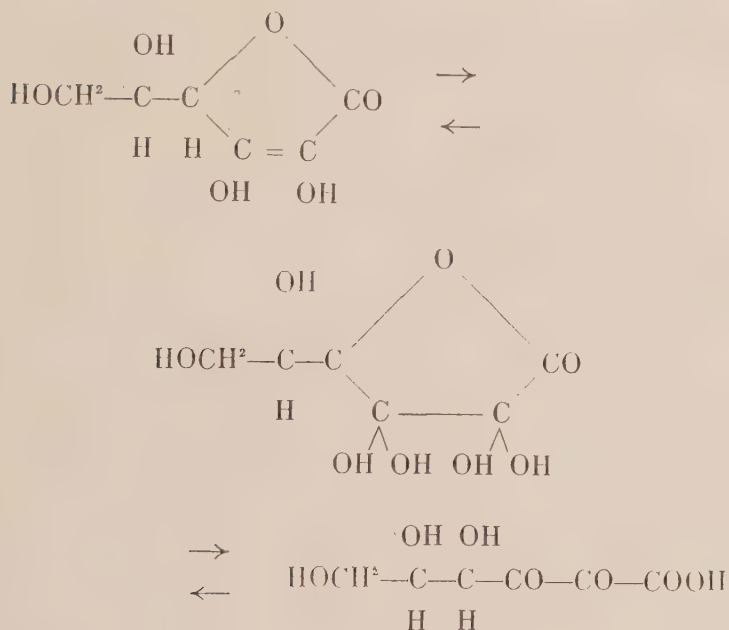
absorption sélective de l'acide l-ascorbique. Si, par contre, la solution aqueuse du produit d'oxydation est laissée à la température du laboratoire, la rotation change graduellement de $+ 56^{\circ}$ à $- 6^{\circ}$ en 70 heures et un temps plus long peut être requis pour atteindre l'équilibre si l'acide minéral (2 mol.) formé pendant l'oxydation est neutralisé. Le changement de rotation est accompagné par le développement graduel d'une large bande à λ 290 m μ , qui atteint son maximum d'intensité quand la solution a son équilibre, c'est-à-dire que 80 % du produit d'oxydation est présent comme acide libre. Il n'y a pas désintégration de la molécule car la réduction par l'acide iodhydrique donne à partir du produit l'acide l-ascorbique. Mais il a été vu, par contre, qu'avec l'hydrogène sulfuré, le produit de réduction est seulement de 10 %.

Le produit d'oxydation fraîchement préparé donne un dérivé orange avec la phénylhydrazine (P. F. 216°). Un dérivé phénylhydranisé jaune différent (P. F. 210°) est obtenu, ayant pourtant la même formule empirique, à partir de la solution équilibrée et du produit oxydé après ouverture de la chaîne lactone dans la formation de sels. Les solutions alcalines sont jaunes et très instables en présence des agents d'oxydation y compris l'oxygène gazeux. Quelques décompositions arrivent même dans un gaz inerte avec formation d'acide oxalique.

Il semble que la plupart des changements qui se passent en solution alcaline soient dus à l'extension de l'oxydation et à la réduction du produit d'oxyda-

tion avec régénération partielle de l'acide l-ascorbique.

Le produit d'oxydation primaire ne présente pas d'absorption sélective :



mais si on ouvre le noyau lactonique un (ou deux) des groupes cétohydratés prend la forme normale et la bande à 290 mμ apparaît. Il est compréhensible que la forme lactonique soit plus facilement réduite en acide l-ascorbique que la forme à chaîne ouverte, parce que le dernier, qui doit être lactonisé pendant la régénération de l'acide l-ascorbique, peut d'une manière convenable réagir simultanément comme un sucre furanose ou comme un pyranose. La facilité avec

laquelle l'acide iodhydrique fait la lactonisation et la réduction est probablement due au fait que l'expérience est terminée par l'évaporation à sec de la solution du produit d'oxydation contenant la quantité requise de l'agent réducteur.

RÉGÉNÉRATION DE L'ACIDE L-ASCORBIQUE DE LA
SUBSTANCE OXYDÉE

A. — *De l'acide l-ascorbique fraîchement oxydé.*

L'acide l-ascorbique est oxydé (0,176) en solution aqueuse par addition d'une solution alcoolique d'iode (0,254). La solution incolore est évaporée à sec dans le vide à la température du laboratoire. La séparation de l'iode commence lorsque la solution est évaporée à sirop épais. Le mélange solide d'acide l-ascorbique cristallisé et l'iode est placé dans un courant d'air. L'iode disparaît bientôt par sublimation, l'acide restant est une poudre colorée en crème, identique en tous points avec un échantillon authentique (rendement quantitatif). La matière brute avant recristallisation fond à 180° ; le titrage à l'iode et l'examen spectro-photométrique montre qu'il est à 90 % de pureté. Avec la matière fraîchement oxydée, la réduction peut être effectuée aussi par l'hydrogène sulfuré. Dans ce cas, il est possible de suivre la réaction au spectro-photomètre.

L'acide l-ascorbique peut être oxydé aussi par la quantité calculée d'eau de chlore. Un essai photométrique indique qu'aucune trace de la bande de l'acide

l-ascorbique n'est restée. L'hydrogène sulfuré a été passé dans la solution pendant 15 minutes, le sulfure dissout a été enlevé par addition du minimum d'acétate de plomb, et le plomb par une petite quantité d'acide oxalique. Une portion de la solution diluée convenablement présente la bande d'absorption de l'acide l-ascorbique à 245 m μ . Le rendement de l'acide l-ascorbique régénéré, calculé de l'observation spectro-photométrique était de 90 à 95 % de la théorie. La titration iodométrique donne un résultat confirmatif.

B. — De la solution équilibrée du produit oxydé.

Dans un cas, l'hydrogène sulfuré est inefficace. Le rendement maximum du produit régénéré qui a été obtenu en opérant comme précédemment était de 6 %. La réduction peut cependant être effectuée par l'acide iodhydrique. Le procédé était exactement celui qui a été donné plus haut, excepté que la solution contenant le produit réduit avait obtenu l'équilibre complet avant que l'évaporation ne soit commencée. Une solution alcoolique d'iode a été utilisée comme agent oxydant et la solution finalement obtenue contenait 15 % d'alcool en volume ($\alpha_{1d} = + 60^\circ$). La présence d'alcool retarde grandement la mutarotation et l'équilibre ($\alpha_{1d} = - 6^\circ$) commence à être réalisé après 200 heures. La réduction du produit d'oxydation et la séparation de l'iode prend place comme avant, avec l'exception que dans ce cas, un peu de produits secondaires amorphes, bruns, accompagnent l'acide l-ascorbique régénéré.

Le rendement de ce dernier, jugé par la titration

iodométrique, par l'examen spectrophotométrique et quantitativement aux rayons X pratiqués sur le produit brut a été de 75 à 80 %. Une recristallisation dans l'acétone donne l'acide l-ascorbique pur.

II. — Préparation de l'acide déhydrascorbique

MÉTHODE DE KARRER, SALOMON, MORF et SCHOPP.

Karrer et ses collaborateurs trouvèrent [55, 56, 57] que l'action de l'acétate de cuivre en solution sur l'acide l-ascorbique donne l'acide déhydrascorbique répondant à la formule $C^6 H^6 O^6$ ayant donc deux atomes d'H de moins que l'acide l-ascorbique.

La détermination des hydroxyles, prouva que le déhydroacide a seulement deux hydroxyles, contrairement à l'acide original qui en a quatre. Un des deux hydroxyles enlevé par oxydation est l'hydroxyle enolique responsable du pouvoir réducteur de l'acide ascorbique. L'acide déhydrascorbique est très probablement un peroxyde interne avec l'existence duquel apparaît la qualité oxydative.

Mode opératoire [55].

A une solution aqueuse de vitamine C, on ajoute une solution aqueuse saturée d'acétate de cuivre en excès. On emploie pour 0 gr. 30 de vitamine C, 10 cc. de solution saturée à la température ordinaire d'acétate de cuivre.

La réduction commence aussitôt. La solution se colore bientôt en brun foncé et il se forme après quel-

ques minutes un précipité épais d'oxydure de cuivre. On laisse le liquide au repos pendant une heure ; après quoi, la réduction est terminée et la solution qui est au-dessus du précipité est devenue claire.

On élimine l'excès de cuivre par précipitation à l'aide d'une solution alcoolique de salicyladoxime et l'excès de celle-ci par épuisement à l'éther.

Dans des recherches quantitatives, on a trouvé les quantités suivantes : 47 mgr. d'acide l-ascorbique précipitent une quantité d'oxydure de cuivre qui, titrée d'après Bertrand, correspondent à 16,6 mgr. de cuivre. Calculé pour emploi de 1 atome d'oxygène pour une molécule d'acide l-ascorbique : 19 mgr. de Cu.

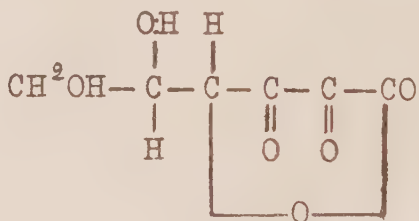
Les valeurs d'oxydure de cuivre trouvées, vis-à-vis de la théorie, trop basses, devaient tenir à ce que, dans la solution faiblement acétique dans laquelle se passe l'oxydation, de petites quantités de sels cuivreux peuvent être maintenues en solution.

Remarque. — Cette oxydation peut également se faire par la quinone.

LE PRODUIT PRIMAIRE D'OXYDATION RÉVERSIBLE DE L'ACIDE ASCORBIQUE.

Les dérivés avec la phénylhydrazine sont, en fait, des dérivés du produit d'oxydation primaire réversible de l'acide ascorbique ou de ses analogues. Une attention considérable a été apportée à la chimie de ce produit d'oxydation réversible de l'acide l-ascorbique qui est important physiologiquement, en ce

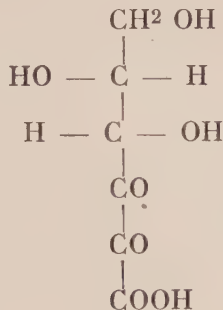
qu'il possède en plein l'activité antiscorbutique de l'acide l-ascorbutique lui-même [42]. Sa chimie est de plus extraordinairement complexe et n'a pas encore pu être complètement élucidée. Il est formé par une oxydation douce par l'iode, en solution acide ou neutre, par le phénol-indophénol aqueux, par l'acétate cuivrique ou par la quinone ; dans ce dernier cas, la réduction de la quinone conduit au quinol. Il apparaît être un stade intermédiaire dans toute la dégradation oxydative de l'acide ascorbique. La facilité de l'oxydation dépend de la présence de deux groupes hydroxyles énoïques libres, et si l'un de ceux-ci, comme, par exemple, dans l'acide 3 — méthylascorbique, est protégé par éthérification, l'oxydation ne peut pas être effectuée sans de beaucoup plus grandes difficultés. Au moment de sa formation, le produit primaire d'oxydation, possède indiscutablement la structure suivante :



et pendant les premiers états des investigations chimiques, une substance de formule $\text{C}_6 \text{H}_6 \text{O}_6$ a été obtenue par Karrer étant probablement l'acide déhydroascorbique.

Un travail récent de Hirst et Woodward (non publié) a confirmé que le produit d'oxydation primaire,

qui a été nouvellement obtenu à l'état solide, est en fait le véritable produit déhydro $C^6 H^6 O^6$ qui probablement existe en solution aqueuse diluée sous une forme hydratée. L'anneau lactonique, par contraste avec l'anneau lactonique de l'acide ascorbique, s'ouvre facilement dans l'eau en donnant naissance à la chaîne acide ouverte. La lactone est facilement réductible (par $H^2 S$ ou HI) en acide ascorbique, mais la chaîne acide ouverte n'est pas réductible en acide ascorbique par traitement avec l'hydrogène sulfuré, quoique la transformation puisse être réalisée par évaporation en présence d'acide iodhydrique [46]. Il est important que les solutions aqueuses d'acide déhydro-ascorbique perdent bientôt leur pouvoir antiscorbutique, parce que la chaîne ouverte acide



est dépourvue d'un tel pouvoir. Même en solution acide, comme il a été considéré plus haut, il est probable que l'ouverture de l'anneau lactonique est accompagnée d'un réarrangement complexe du fait que le diceto-acide peut réagir de plusieurs manières comme un sucre cétonique possédant une structure cyclique. Des indications de ces faits sont données par les chan-

gements compliqués dans le spectre d'absorption, la rotation, etc... Dans des conditions neutres ou faiblement alcalines, la position est beaucoup plus compliquée, de grandes et rapides mutarotations sont observées, et dans ce cas la régénération de l'acide ascorbique est impossible par réduction. Il a été trouvé, que les résultats d'une énoisation profonde par l'effet du mélange alcalin sont des produits analogues, que l'on parte de l'acide l-ascorbique ou de l'acide l-araboascorbique.

Correspondant avec ces changements, il se pose des variations complexes dans le pouvoir d'oxydo-réduction (Hirst et Woodward, non publié). De nombreuses étapes amenant des transformations structurales ont été détectées dans le cours de cette étude, mais leur interprétation dans les termes d'une formule constitutionnelle, ne peut pas être donnée avec certitude [16].

DEUXIÈME PARTIE

CHAPITRE PREMIER

CONDITIONS GENERALES DES EXPERIENCES

L'animal utilisé pour le Scorbut expérimental est le cobaye, car il présente une sensibilité extrême et constante à la carence en vitamine C ; en outre, sa reproduction facile en fait l'animal de choix pour beaucoup d'expériences.

Les animaux choisis pesaient de 250 à 325 grammes environ. Nous les avons soumis au régime scorbutigène mis au point par M. le Professeur Mouriquand et ses collaborateurs et utilisé au laboratoire. Il est formé de deux éléments :

- 1° Foin sec en menus brins ;
- 2° Pâtée d'orge, simple mouture délayée dans de l'eau distillée.

Ce régime est basé sur le principe suivant : nécessité d'administrer au cobaye une ration privée de vitamine C, mais se rapprochant le plus possible de la nourriture habituelle du chenil comprenant paille plus foin, plus pâtée faite de croûtes de pain trempées dans l'eau et pétries avec du son, plus débris de différentes sortes de légumes frais.

Chaque animal prenait de sa nourriture à volonté.

Nos expériences étant comparatives, nous avons mis au régime carencé plusieurs séries de lots de cobayes dont plusieurs nous servirent de lots témoins. Nous avons donc utilisé la méthode biologique dite préventive [61].

A un régime exempt de vitamine C mais complet sous tous les rapports, nous avons ajouté chaque jour une certaine quantité de substance à étudier.

Chacune de nos doses de complexes mise en ampoules de verre spécial était administrée par voie digestive, soit en poudre, soit en suspension dans l'alcool, soit enfin dissoute dans la quantité minimum d'eau.

Les individus étaient suivis tous les jours,

Leurs lésions constatées nous ont été confirmées au cours de leur vie par des scarifications, et par des radiographies (ces dernières pour les animaux présentant un peu d'ankylose des articulations); puis, à leur mort, par l'autopsie. Après celle-ci, nous avons effectué sur les surrénales soit la réaction de Szent-Györgyi [90] modifiée par Giroud et Leblond [36, 38] soit le dosage de l'acide ascorbique par la méthode d'Emmerie et Van Eekelen [24, 27, 28] appliquée, avec quelques modifications, aux capsules surrénales par M. Viennois.

I. — Recherche de l'acide ascorbique

La première réaction n'est qu'une simple vérification de la présence de l'acide ascorbique dans la cortico-surrénale et basée sur le principe suivant : l'aci-

de l-ascorbique réduit le nitrate d'argent en milieu acide même à l'obscurité [37, 39].

Le réactif utilisé est une solution de nitrate d'argent à 10 % additionnée de 1 % d'acide acétique. Ce réactif in vitro donne une réaction positive avec une solution d'acide l-ascorbique à 1/50.000^e alors qu'il n'est réduit ni par les sucres (glucose, fructose) ni par les substances à fonction sulfhydryle, ni par la créatinine et n'est pratiquement pas modifié par les phénols tels adrénaline et tanin. En présence de ce réactif, l'acide ascorbique contenu dans les surrénales réduit le nitrate d'argent en formant un dépôt d'argent métallique gris, plus ou moins noir, au niveau de la zone corticale [40].

II. — Dosage de l'acide ascorbique

Le dosage de l'acide ascorbique est basé sur la méthode de Tillmanns [91], modifiée par les auteurs hollandais Van Eekelen et Emmerie [23, 25, 26] et appliquée aux capsules surrénales avec quelques modifications par Viennois [93]. Cette technique est d'après Ferrand [33] applicable aux organes en donnant des résultats comparables à ceux de la méthode Martini et Bonsignore [63]. Pour Neutzer et Vialard-Goudou [64] au contraire, cette dernière méthode serait plus spécifique et donnerait des résultats sensiblement plus élevés.

Ayant adopté la méthode de Van Eekelen et Emmerie, nous l'avons conservée pour tous nos dosages.

PRINCIPE

1° Elimination des substances sulfurées, en milieu trichloracétique neutralisé, par précipitation à l'aide de l'acétate mercurique.

2° Réduction de la forme oxydée réversible de l'acide l-ascorbique, due au traitement par l'acétate mercurique, par un traitement convenable à l'hydrogène sulfuré.

3° Titration, à pH 1, 2, par le réactif de Tillmanns au 2—6 dichlorophénol-indophénol.

Réactifs employés :

— Acétate mercurique à 20 %.

— Acide trichloracétique à 20 %.

— $\text{CO}^3 \text{ Ca}$ pur.

— Solution N/1000^e de 2 — 6 dichlorophénol-indophénol effectuée de la manière suivante :

2—6 dichlorophénol-indophénol : 26 mgr. 8.

$\text{PO}^4 \text{ H Na}^2 \text{ N/15}$: 5 cm³.

$\text{PO}^4 \text{ H}^2\text{K N/15}$: 5 cm³.

H_2O distillée qs. p. 100 cm³.

La solution est conservée en flacon jaune. Le pH obtenu de cette manière, environ 7,2, assure la conservation du réactif qu'il est nécessaire néanmoins de titrer tous les 3 ou 4 jours.

TECHNIQUE

Après avoir essuyé et pesé les capsules surrénales, on les broie au mortier avec 5 cm³ d'acide trichloracétique à 20 % en utilisant de la poudre de verre, lavée

à l'acide trichloracétique à 20 %, puis à l'eau distillée. L'extractum est versé dans un tube à centrifuger de 50 cm³. On rince le mortier avec 2 fois 5 cm³ d'acide trichloracétique à 20 % que l'on joint au liquide du tube à centrifuger. On centrifuge. Le culot est repris deux fois par de l'eau distillée afin de réaliser un épuisement complet. Les liqueurs sont neutralisées par un excès de CO³ Ca. Il faut agiter et bien laisser échapper l'excès de gaz carbonique. On ajoute alors, peu à peu, en agitant, 4 cm³ de solution d'acétate mercurique. Le précipité ainsi obtenu, mélangé de CO³ Ca, est séparé par centrifugation durant deux minutes. Le liquide surnageant est décanté dans un autre tube et le culot repris par 10 cm³ d'eau distillée. Une nouvelle centrifugation est effectuée, aussi rapide que possible. Les liquides sont réunis et soumis à l'action d'un courant d'hydrogène sulfuré pendant une demi-heure environ. Il faut aller extrêmement vite entre l'instant où l'acétate mercurique est ajouté et celui où S H² passe dans le liquide après centrifugation.

Le précipité de sulfure est séparé par centrifugation et laissé avec 5 cm³ d'eau distillée. On fait passer dans la totalité des liquides un fort courant d'azote pour chasser l'excès de S H². L'absence de celui-ci est vérifiée par le papier au sous-acétate de plomb ou par la réaction au nitroprussiate de sodium. Le volume est complété à 50 cm³ avant la titration.

Cette dernière est effectuée sur des prises d'essai de 5 à 10 cm³, amenées à un pH de 1,2 par addition d'acide trichloracétique à 20 %. La solution de Till-

manns est ajoutée au moyen d'une microburette jusqu'à teinte rose persistant plus de deux minutes.

Nota. — Nous n'avons jamais fait sur un même individu la recherche et le dosage de l'acide ascorbique. D'une façon générale, nous avons fait la réaction de Giroud-Leblond sur les surrénales des animaux morts depuis 15 heures et plus (malgré les constatations faites par Mouriquand et Cœur) [72] et le dosage sur les surrénales des cobayes de mort récente [93].

CHAPITRE II

ETUDE DU POUVOIR ANTISCORBUTIQUE DU COMPLEXE A 11

I. — Ce qu'est ce complexe

Il s'agit d'un sel ferrico-sodique, préparé à partir de l'acide déhydrascorbique, par addition de solution aqueuse de perchlorure de fer en quantité calculée pour qu'il y ait un atome de fer par molécule organique et de bicarbonate de soude en quantité voulue pour saturer l'hydracide formé au cours de l'oxydation de l'acide ascorbique en acide déhydrascorbique pour libérer tout l'hydroxyde de fer.

L'analyse de ce sel, séché dans le vide, a donné des chiffres variant d'une préparation à l'autre, mais se rapprochant comme pourcentage des chiffres suivants :

Fe : 18,52 %

Na : 7,61 %

La détermination du point de congélation des solutions aqueuses a donné des chiffres permettant de calculer des valeurs de poids moléculaire variant de 253 à 273, à condition qu'elle soit faite dans un temps très rapproché du moment de la solubilisation.

Un essai de régénération de la substance organique,

servant de support aux métaux dans ce sel complexe, a permis de retrouver après réduction par l'hydrogène sulfuré 12 % d'acide ascorbique (proportion déterminée par titrage du pouvoir réducteur).

II. — Partie expérimentale

Nous sommes partis des résultats obtenus préalablement à savoir :

- que le complexe n'était pas toxique ;
- que la limite de protection était vers 7 mgr ;
- que le seuil de l'activité antiscorbutique pour l'acide déhydrascorbique était environ 5 fois plus forte que l'acide l-ascorbique.

Nous avons mis en expérience 4 lots de cobayes soumis aux régimes suivants :

<i>Lots</i>	<i>Régime quotidien</i>
I	Ration scorbutigène
II	Ration scorbutigène + 25 mgr. acide l-ascorbique (+ 5 mgr. de complexe).
III	Ration scorbutigène + 4 mgr. acide déhydrascorbique (+ 5 mgr. de complexe).
IV	Ration scorbutigène + 5 mgr. de complexe.

RÉSULTATS OBTENUS

Lot I. — Les cobayes ne présentèrent cliniquement rien d'anormal jusqu'au quinzième jour ; à ce mo-

ment apparaissent les premiers signes scorbutiques : douleurs au niveau des articulations des pattes postérieures puis antérieures. Les jours suivants, le scorbut suivit son évolution aiguë normale avec mort entre le vingt-huitième et le trente-deuxième jour.

L'autopsie révéla d'importantes hémorragies bilatérales aux genoux ainsi qu'aux articulations des coudes et des poignets. La résistance osseuse était fortement diminuée au niveau des épiphyses.

Sur les surrénales :

- a) La réaction de Giroud et Leblond fut négative;
- b) Le dosage de l'acide ascorbique total de 0,05 mgr.

Lot II. — Chez ces animaux, on constata un développement pondéral continu, un très bon état général ; aucun signe clinique anormal ne fut suspecté.

1° Certains, sacrifiés entre les 65^e et 85^e jours, nous donnèrent une autopsie complètement négative.

La réaction de Giroud-Leblond fut fortement positive et on obtint un chiffre de 0,36 mgr. d'acide ascorbique dans les surrénales.

2° Les autres furent en observation pendant trois mois et demi et présentèrent une évolution normale sans signes cliniques apparents. Nous avons supprimé alors l'acide ascorbique de leur régime quotidien. Vers le 160^e jour (60^e jour du nouveau régime) apparurent des douleurs bilatérales suivies de tuméfactions. Ces individus eurent un poids sensiblement constant, sauf, vers leur mort, qui arriva au septième mois (210^e, 225^e jour).

L'autopsie décela des hémorragies bilatérales, mais

seulement aux membres postérieurs ; la résistance osseuse était très peu diminuée.

Dans les surrénales, la réaction de Giroud-Leblond fut faiblement positive, et, nous avons trouvé 0,22 mgr. d'acide ascorbique.

Lot III. — Les animaux de ce lot furent suivis pendant 3 mois. Cliniquement, ils manifestèrent une évolution normale ; prise de poids constante, bon état général.

Sacrifiés entre les 60^e et 90^e jours, l'autopsie montra de très légers points hémorragiques aux membres postérieurs, une résistance osseuse normale. La réaction sur les surrénales fut positive, et, la quantité d'acide ascorbique : 0,25 mgr.

Lot IV. — Les cobayes n'eurent aucun symptôme scorbutiforme jusqu'au 30^e jour. A ce moment, ont commencé les douleurs puis les tuméfactions. Des scarifications faites au niveau des genoux, nous décelèrent la présence d'hémorragies très nettes.

1^o Vers le 70^e jour, nous avons sacrifié certains animaux. L'autopsie nous a confirmé la présence d'hémorragies bilatérales dans la région fémorale, les coudes n'en avaient pas. La résistance osseuse était un peu diminuée.

Les recherches chimiques opérées sur les surrénales nous donnèrent 0,16 mgr. d'acide ascorbique total, une réaction de Giroud et Leblond très faiblement positive.

2^o Les autres animaux de ce lot furent suivis pendant plusieurs mois. Les lésions ostéohémorragiques

typiques subsistent avec conservation du bon état général, progression ou tout au moins plateau pondéral. Cette « carence eutrophique », d'évolution apparemment bénigne se compliqua au bout de 4 mois d'une ankylose progressive faisant suite à la raideur des membres postérieurs. Les animaux n'avancent que grâce à la motilité des membres antérieurs et traînent leur train postérieur.

Les radiographies ont montré alors un aspect soufflé des diaphyses fémorales, un écrasement des têtes épiphysaires des fémurs et des tibias avec décalcification. Ces cobayes succombèrent entre les septième et huitième mois.

L'autopsie montra des lésions hémorragiques très marquées aux articulations du genou, une diminution très grande de la résistance osseuse, la raréfaction du tissu osseux au niveau des épiphyses. L'acide ascorbique contenu dans les surrénales n'est plus que de 0,17 mgr.

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Il résulte de cette expérience que la dose de 5 mgr. de ce complexe a un très faible pouvoir antiscorbutique, puisqu'il réalise un scorbut chronique avec carence eutrophique typique et de gros désordres ostéo-articulaires amenant un véritable syndrome de rhumatisme ankylosant.

CHAPITRE III

ETUDE DU COMPLEXE AA 11

I. — Préparation

C'est un complexe ferrico-sodique préparé à partir de l'acide déhydrascorbique. Il est obtenu par action d'une solution aqueuse de perchlorure de fer en quantité telle qu'il y a deux atomes de fer par molécule organique. On sature l'hydracide, formé au cours de l'oxydation de l'acide ascorbique en acide déhydrascorbique, par le bicarbonate de sodium qui libère aussi tout l'hydroxyde de fer.

On obtient un produit pulvérulent jaune, très soluble dans l'eau. La teneur en fer de 25,92 % et en Na : 5,79 %.

II. — Partie expérimentale

Nous avons mis en expérience 5 lots d'animaux à ces différents régimes :

<i>Lots</i>	<i>Régime quotidien</i>
I	Régime scorbutigène.
II	Régime scorbutigène + 25 mgr. d'acide ascorbique.
III	Régime scorbutigène + 5 mgr. de complexe.
IV	Régime scorbutigène + 12 mgr. de complexe.
V	Régime scorbutigène + 25 mgr. de complexe.

RÉSULTATS OBTENUS (graphique 1)

Lot I. — Ces témoins firent un scorbut à évolution normale se terminant par la mort entre le 28^e et le 32^e jour (suivant les individus). L'autopsie révéla les mêmes lésions que celles vues dans l'expérience précédente.

Les recherches chimiques sur les surrénales furent également identiques.

Lot II. — Chez ces animaux rien ne fut à signaler pendant les cinq mois d'observation. Ils prirent normalement du poids jusqu'au jour où nous les avons sacrifiés.

L'autopsie ne décela rien d'anormal tant au point de vue osseux qu'à l'intégrité des parois vasculaires.

La réaction de Giroud-Leblond fut fortement positive et nous avons trouvé 0,44 mgr. d'acide ascorbique dans les surrénales.

Lot III. — Ces cobayes semblèrent ne rien présenter jusqu'au 12^e jour; puis survinrent des tuméfactions des membres postérieurs, et des crépitations. Ce fut ensuite une régression du poids, une apparition de la

diarrhée et la mort entre le 30^e et le 34^e jour. L'autopsie montra de fortes hémorragies aux membres antérieurs et postérieurs, avec une résistance osseuse à peu près nulle. Sur les surrénales, la réaction de Giroud-Leblond fut négative et la quantité d'acide ascorbique égale à 0,07 mgr.

Lot IV. — Les animaux de ce lot prirent du poids jusqu'au 35^e jour. Aux membres postérieurs, on constata de légères douleurs, des crépitations, puis des tuméfactions bilatérales. Le poids commença à diminuer très légèrement, et, au 50^e jour, les cobayes accusèrent une raideur de leurs pattes arrières, puis un début d'ankylose avec difficulté d'extension de la jambe sur la cuisse. Radiographiquement on eut de grosses lésions aux épiphyses fémorales, les diaphyses soufflées avec réaction périostique, enfin une décalcification expliquant les nombreuses fractures des membres.

Ces cobayes sont morts entre le 85^e et le 100^e jour.

L'autopsie montra de fortes hémorragies aux genoux, plus légères aux coudes ; la résistance osseuse était très diminuée.

La quantité d'acide ascorbique des surrénales avait baissé puisqu'on n'en trouve que 0,18 mgr. et que la réaction au nitrate d'argent fut négative.

Lot V. — Nous n'avons rien constaté d'anormal jusqu'au 45^e jour, époque à laquelle, la pression des articulations devint douloureuse, de légères tuméfactions apparurent. Nous avons fait alors des scarifica-

tions au niveau des genoux montrant l'existence de petits points hémorragiques et d'un œdème très prononcé. Au 70^e jour survint la raideur puis de l'ankylose des membres postérieurs. Radiographiquement, nous avons constaté de très grosses lésions d'ostéopériostite des fémurs, une forte décalcification des têtes fémorales et tibiales avec autour des os des végétations calciques. Comme les animaux des lots précédents, la fragilité des os nous amena de nombreuses fractures.

1° Certains de ces cobayes furent sacrifiés (80^e jour). L'autopsie nous confirma l'existence de lésions très importantes au niveau des membres postérieurs avec hémorragies bilatérales incluses dans un tissu musculaire jaunâtre, une rétraction musculaire empêchant l'extension de la jambe sur la cuisse. La résistance osseuse était très diminuée.

Dans les surrénales :

la réaction de Giroud et Leblond fut négative ;

la quantité d'acide ascorbique réduite à 0,18 mgr.

2° D'autres au 70^e jour reçurent 25 mgr. d'acide ascorbique en plus de leur régime initial. En trois semaines les tuméfactions et douleurs cessèrent. Les radiographies ne présentèrent plus d'anomalies. Devant cette guérison évidente des lésions scorbutiformes, nous sommes revenu au régime du premier jour (suppression de l'acide ascorbique au 100^e jour). Pendant les deux mois suivants, les animaux vécurent normalement sans présenter aucun signe suspect. Puis survinrent à nouveau les douleurs, les crépitations, les tuméfactions. Le poids des individus accusait une très

légère baisse. Au sixième mois de l'expérience, on sacrifia ces cobayes. L'autopsie nous donna les mêmes indications que ci-dessus. La quantité d'acide ascorbique des surrénales fut de 0,19 mgr.

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Ce complexe conserve un minime pouvoir antiscorbutique, car si une faible dose, 5 mgr., nous a permis de constater un scorbut aigu, des doses plus fortes (12 et 25 mgr.) nous ont donné les symptômes d'une avitaminose C chronique et partielle. Celles-ci nous ont donné avec une grande régularité des lésions de décalcification osseuse, fait constaté au cours d'expériences antérieures [73].

CHAPITRE IV

ETUDE DU POUVOIR ANTISCORBUTIQUE DES PRODUITS RA 1037 et 1038

I. — Préparation

Ces produits ont été obtenus non en partant du produit d'oxydation de l'acide ascorbique : l'acide déhydrascorbique, mais à partir de l'acide l-ascorbique lui-même. Celui-ci est traité par le perchlorure de fer en solution alcoolique, puis par le bicarbonate de soude pour libérer tout l'hydroxyde de fer.

Les produits générateurs d'hydroxyde ferrique sont en quantité telle que le premier est un complexe ferroso-ferrique et que le second est ferreux.

Ces complexes sont conservés en suspension dans un peu d'alcool absolu.

L'analyse élémentaire a donné après dessiccation :

- a) pour le complexe R A 1037 25,16 % de fer et
2,78 % de sodium
- b) pour le complexe R A 1038 18,50 % de fer et
6,56 % de sodium

II. — Partie expérimentale

Nous avons mis en expérience deux lots d'animaux témoins et pour chaque produit trois lots soumis aux doses indiquées ci-dessous :

<i>Lots</i>	<i>Régime quotidien</i>
I	Régime scorbutigène
II	Régime du chenil + 2 cm ³ alcool à 40°.
III	Régime scorbutigène + 5 mgr. de complexe
IV	Régime scorbutigène + 10 mgr. de complexe
V	Régime scorbutigène + 15 mgr. de complexe.

Ces animaux furent suivis tous les jours, et nous leur avons préparé la solution des complexes juste au moment de l'emploi. Leur analyse, en effet, avait montré que leur altérabilité était fonction du vieillissement de la solution aqueuse.

RÉSULTATS OBTENUS

Lot I. — Les cobayes firent un scorbut aigu normal.

Lot II. — Ces animaux perdirent du poids au début de l'expérience, mais au bout de quelques jours eurent une courbe croissante. Suivis pendant près de quatre mois, on ne constata chez eux qu'un peu d'œdème aux articulations vers le 40^e jour; mais il fut vite en voie de régression et ne réapparut jamais.

Les animaux des lots soumis au régime scorbutigène-

ne + des doses différentes de complexe, présentèrent une croissance normale pendant toute la durée de l'expérience et aucun accident scorbutique ne fut à signaler.

Nous nous résumons dans le tableau suivant :

Lots	Jours	Signes (cliniques	Autopsie	Ac. Ascorbique des surrénales		R ^{na} de Giroudet leblond
				en mgr.		
I		évol. scor- but nor- mal	+	0,05		—
II		R A S	—	0,49		+ + +
				RA 1037	RA 1038	
	(40	R A S	—	0,31	0,28	+ + +
III	(90	R A S	—	0,34	0,27	+ + +
	(110	R A S	—	0,33	0,29	+ + +
	(40	R A S	—	0,39	0,33	+ + +
IV	(90	R A S	—	0,33	0,36	+ + +
	(110	R A S	—	0,31	0,35	+ + +
	(40	R A S	—	0,35	0,38	+ + +
V	(90	R A S	—	0,36		+ + +
	(110	R A S	—	0,36	0,36	+ + +

Ces deux expérimentations nous ont montré que ces sels complexes ont conservé un pouvoir antiscorbutique très grand.

CHAPITRE V

ETUDE DU POUVOIR ANTISCORBUTIQUE DES PRODUITS AOB et AOBN

I. — Ce que sont ces complexes

La désignation de ces produits, destinés à être, dans les expérimentations sur l'animal et dans les essais chimiques, administrés en solution aqueuse par la bouche, rappelle que ce sont des produits buvables.

L'un et l'autre sont préparés à partir de l'acide déhydrascorbique à anneau lactonique ouvert, transformé, par hydrolyse en acide 2-3 dicéto-1-gulonique. Celle-ci, suivant les indications de Hirst et de ses collaborateurs [46], peut être effectuée en milieu acide, neutre ou alcalin, mais avec une rapidité différente et aussi avec des remaniements de la constitution interne (hydratation d'un ou deux groupements cétoniques, engagement d'un de ceux-ci dans un noyau pyranosique) différents, comme en témoignent les phénomènes de mutarotation qui ont frappé ces savants anglais et qui ont aussi été suivis au Laboratoire de Chimie organique de la Faculté.

II. — Préparation du produit AOB

Le produit A O B a servi de point de départ soit pour la solution buvable, soit pour le complexe ferri-co-magnésien, dont les effets sur les scléroses en plaques viennent d'être décrits par MM. J. Lépine, A. Morel, F. Arloing, A. Josserand et L. Perrot dans une communication récente à l'Académie de Médecine [60].

Il a été le produit initial pour la préparation de complexes ferrico-sodiques, dont les effets de l'utilisation sur certains éléments cliniques des cancers ont été communiqués récemment par MM. L. Bérard, A. Morel, F. Arloing, A. Josserand et L. Perrot [13].

On l'a obtenu de la façon suivante :

On laissait séjourner, pendant 4 jours (96 heures), à la température du laboratoire (18 à 20°), une solution aqueuse d'acide déhydrascorbique, en présence d'acide chlorhydrique formé au cours de l'oxydation par l'eau de chlore, qui avait permis de le réaliser à partir de l'acide l (+) ascorbique en solution à 1 %.

Son pouvoir rotatoire spécifique était devenu lévogyre et voisin de $[\alpha] D^{20} = -7^\circ$. C'est cette solution aqueuse qui était désignée sous le nom de A O B. Comme l'ont signalé les savants anglais, elle conserve son pouvoir rotatoire sans changement; elle correspond à leur solution d'acide déhydrascorbique équilibrée et renferme deux molécules d'acide chlorhydrique libre par molécule de corps organique.

III. — Préparation du produit AOBN

Ce complexe a été préparé par hydrolyse en milieu légèrement alcalin. Celle-ci se passe beaucoup plus rapidement qu'en milieu acide.

La solution aqueuse à 1 % d'acide déhydrascorbique, obtenue par oxydation de l'eau de chlore d'une solution d'acide l (+) ascorbique, est aussitôt neutralisée, jusqu'à saturation de l'acide chlorhydrique formé (dont la proportion est dosée quantitativement), par une solution de soude caustique N/5. Puis on ajoute, par mince filet et en agitant vivement à l'agitateur rotatif, de la solution de soude caustique N/10 jusqu'à ce que la quantité de celle-ci corresponde au groupement carboxyle (COOH) qui va se former au cours de l'hydrolyse de l'anneau lactonique. Toutes ces opérations sont réalisées à l'abri de l'air, c'est-à-dire sous azote rigoureusement privé d'oxygène.

Pour la conservation de cette solution, on revient en arrière, vis-à-vis de sa neutralisation, de manière à avoir le groupement carboxyle libre.

A ce moment le pouvoir rotatoire est :

$$[\alpha] D 18^{\circ} = - 17^{\circ}$$

IV. — Partie expérimentale

Nous avons mis en expérience quatre lots de cobayes dont deux nous servirent de lots témoins.

<i>Lots</i>	<i>Régime quotidien</i>
I	Régime scorbutigène.
II	Régime du chenil + 3 cm ³ de solution A O B.
III	Régime scorbutigène + 3 cm ³ de solution AOB.
IV	Régime scorbutigène + 4,5 cm ³ de solution A O B N.

Nous avons suivi ces animaux tous les jours en leur préparant au moment de l'emploi la solution de A O B en la saturant par la quantité déterminée de bicarbonate de soude.

Au contraire la solution de A O B N nous a été donnée prête à être employée.

RÉSULTATS OBTENUS

Lot I. — Ces témoins firent un scorbut aigu à évolution normale.

Lot II. — Ces animaux ne présentèrent aucun signe clinique pendant trois mois et demi. Certains sacrifiés au 50^e jour ne nous révélèrent aucune lésion à l'autopsie. Au 105^e jour, il en fut de même.

Dans les surrénales nous avons trouvé 0,22 mgr. d'acide ascorbique.

Lot III. — Ces cobayes présentèrent de légères douleurs aux articulations avec poids constant; puis celui-ci baissa un peu pour faire ensuite une augmentation pondérale graduelle jusqu'au 90^e jour où nous les avons sacrifiés.

L'autopsie nous décela de très légers points hémorragiques aux membres postérieurs.

La dose d'acide ascorbique des surrénales fut trouvée de 0,17 mgr.

Lot IV. — Les individus de ce lot n'eurent aucun symptôme douteux, leur prise de poids fut normale.

Les uns sacrifiés au 50^e jour, les autres au 110^e jour, présentèrent à l'autopsie des signes scorbutiformes très discrets (très légères hémorragies, résistance osseuse normale) avec toutefois une quantité d'acide ascorbique dans les surrénales totales légèrement abaissée : 0,15 mgr. au 50^e jour, 0,17 mgr. au 110^e.

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

De cette expérience, il résulte que la protection pour le scorbut de ces produits A O B et A O B N, aux doses indiquées, est à peu près complète. Pour ce dernier produit, l'action défavorable sur le développement des tumeurs expérimentales greffées à des animaux, a, avec le résultat de notre expérimentation, fait arrêter tout autre essai.

CHAPITRE VI

ETUDE DU POUVOIR ANTISCORBUTIQUE DES PRODUITS AOB *juxta* et AXX

I. — Ce que sont ces produits

A) Le produit A O B *juxta* est le produit A O B (du chapitre précédent) dont l'acidité chlorhydrique est complètement saturée et dont le groupe carboxylique est saturé aux trois quarts par le bicarbonate de soude.

Il a un ph de 6,4.

B) Le produit A XX est un des sels complexes ferrico-sodiques dont les essais ont été décrits récemment [13].

Il est préparé à partir du produit A O B, par addition d'une quantité de perchlorure de fer en solution aqueuse correspondant à un atome de fer par molécule de corps organique et de bicarbonate de soude en quantité calculée pour libérer tout l'hydroxyde de fer, mais aussi pour saturer le groupement carboxyle libre et l'acide chlorhydrique. Le produit obtenu par précipitation était conservé, à l'état de pâte imprégnée d'alcool absolu, en ampoules en verre jaune scellées.

en atmosphère de gaz inerte (azote pur), à l'abri de la lumière et de la chaleur.

L'analyse sur le produit desséché dans le vide a donné une teneur en fer de 20,18 % et en sodium de 7,15 %.

La détermination du point de congélation des solutions aqueuses a donné les chiffres permettant d'octroyer à ce complexe un poids moléculaire de 303, cette détermination étant faite immédiatement après la dissolution du produit dans l'eau.

II. — Partie expérimentale

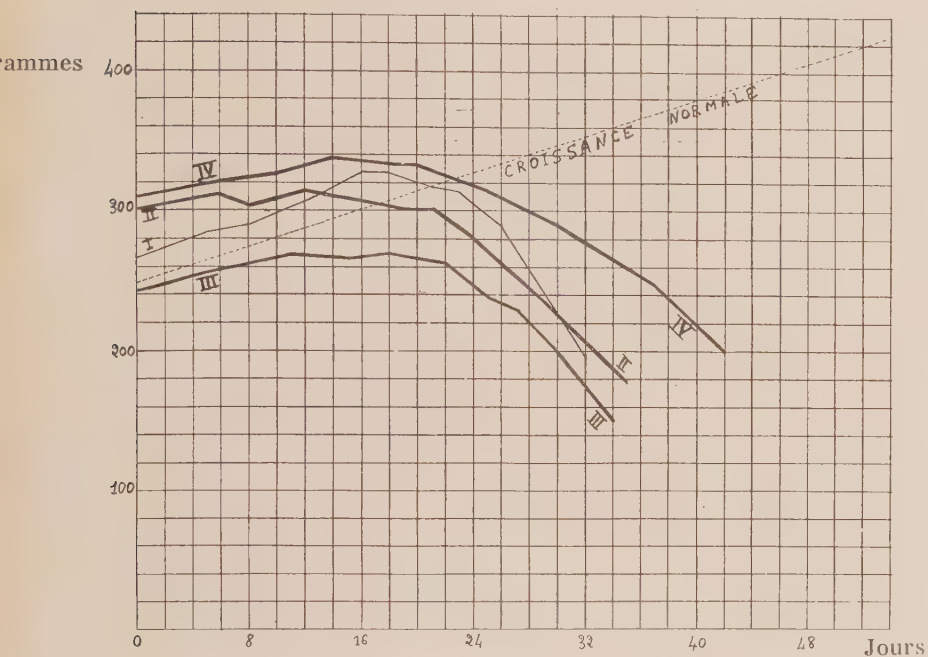
Nous avons pris quatre lots de cobayes dont l'un servit de témoin. Tous furent au même régime de base avec ou sans autre substance. Pour simplifier, nous nous résumons dans le tableau suivant :

<i>Lots</i>	<i>Régime quotidien</i>
I	Régime scorbutigène.
II	Régime scorbutigène + 1 cm ³ A O B juxta.
III	Régime scorbutigène + A XX.
IV	Régime scorbutigène + A XX + A O B juxta.

Le produit A XX, livré en ampoules, a été dissout dans l'eau au moment de l'emploi. Quant au mélange A XX + A O B juxta il a été fait également au dernier moment. Les doses données de ces complexes ou de leur mélange correspondent dans les trois cas à 5 mgr. d'acide l-ascorbique.

RÉSULTATS OBTENUS (Graphique II)

Lot I. — Les animaux témoins firent un scorbut normal avec signes cliniques vus dans les autres expériences.



Lot II. — Les individus de ce lot prirent du poids jusqu'au 15^e jour, époque à laquelle s'installèrent des tuméfactions bilatérales des membres postérieurs. La chute de poids, d'abord légère, alla en s'accroissant surtout à partir du moment (28^e jour) où les cobayes eurent de la diarrhée avec selles sanguinolentes. Ramassés en boule, somnolents, ils moururent vers les 32^e ou 35^e jours.

L'autopsie nous montra d'énormes hémorragies, tant au niveau des articulations des genoux et des poignets, qu'au contact des muscles des cuisses. La résistance osseuse était à peu près nulle. Des organes, seule la rate fut trouvée parfois hypertrophiée. Mais dans les surrénales on trouva 0,12 mgr. d'acide ascorbique.

Lot III. — Ces animaux n'eurent aucun symptôme jusqu'à une période variant du 13^e au 18^e jour ; cette période marqua le début des tuméfactions. Après un poids en plateau pendant quelques jours, on constata une diminution vers le 20^e jour qui s'accrut jusqu'à la mort survenue vers le 35^e jour. Elle fut précédée de diarrhée (28^e jour) et d'une cachexie très profonde pendant laquelle les lésions semblèrent régresser.

L'autopsie nous montra d'énormes hémorragies bilatérales au niveau des membres antérieurs et postérieurs, avec des suffusions sanguines sous-cutanées, immédiatement au contact de l'aponévrose et l'enrobant.

Les organes : foie, reins, rate, surrénales, étaient normaux. Seule une nette diminution de l'acide ascorbique : 0,10 mgr. fut constatée par le dosage.

Lot IV. — Les cobayes de ce lot présentèrent des tuméfactions vers le 28^e jour, non seulement aux genoux, mais encore aux coudes. Leur poids diminua graduellement. Une forte diarrhée apparut vers le 25^e jour, qui devint de plus en plus forte jusqu'à la mort de nos animaux survenue entre le 42^e et le 45^e jour.

L'autopsie nous révéla les mêmes lésions que celles

vues au lot précédent. Dans les surrénales, on trouva 0,12 mgr. d'acide ascorbique.

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Ces deux sels complexes, soit administrés séparément, soit associés, ont donc perdu tout pouvoir antiscorbutique, puisqu'ils communiquent aux cobayes un scorbut, type aigu.

CONCLUSIONS

Les recherches effectuées sur le cobaye soumis au régime carencé en vitamine C que nous venons d'exposer, nous ont montré :

1° Que les sels complexes ferroso-ferrico-sodiques préparés à partir de l'acide l (+) ascorbique (R A 1037 et 1038) bien que pouvant être en partie rattachés au premier produit d'oxydation de cette substance (acide déhydrascorbique) ont conservé un pouvoir antiscorbutique important.

2° Que les sels complexes, préparés à partir de l'acide déhydrascorbique et contenant soit un atome (A II) soit deux atomes de fer (A A II), ont manifesté un pouvoir antiscorbutique plus diminué. Les animaux ont survécu plusieurs mois, et ils ont présenté un type de scorbut que M. le Professeur Mouriquand rapproche du scorbut chronique qu'il a décrit. Les lésions ostéo-articulaires observées réalisent un syndrome que ce Maître a désigné sous le nom de rhumatisme ankylosant.

3° Que l'acide déhydrascorbique à anneau lactonique ouvert par hydrolyse, soit en milieu acide minéral

(A O B), soit en milieu alcalin (A O B N) a montré un pouvoir antiscorbutique, à la suite de son administration à doses relativement élevées.

4° Qu'un sel complexe ferrico-sodique (A XX) préparé à partir du produit A O B administré à la dose de 5 mgr. par jour, apparut totalement dépourvu de pouvoir antiscorbutique.

Vu :

LE DOYEN :

JEAN LEPINE.

Vu :

LE PRÉSIDENT DE LA THESE :

MOREL.

Vu et permis d'imprimer :

Lyon, le 31 Mars 1939.

LE RECTEUR, PRÉSIDENT DU CONSEIL DE L'UNIVERSITÉ.
A. LIRONDELLE.

BIBLIOGRAPHIE

1. ARMAND (S.). — Contribution à l'étude du pouvoir anti-scorbutique de quelques dérivés chimiques de la Vitamine C. *Thèse Doctorat en Pharmacie*, Lyon, 1937.
2. ARLOING (F.), JOSSERAND (A.), CHARACHON (J.). — Association d'un sel de fer aux extraits de capsules surrénales préparées dans le traitement du cancer expérimental de la souris. *C. R. Soc. Biol.*, 1930.
3. ARLOING (F.), MOREL (A.), JOSSERAND (A.). — Nouvelles recherches sur les propriétés antitumorales d'extraits de surrénales vis-à-vis de l'épithélioma de la souris blanche. *C. R. Soc. Biol.*, 1933.
4. — Effets vis-à-vis des cancers expérimentaux d'un produit d'action du chlorure ferrique sur les sels de l'acide l-ascorbique. *C. R. Soc. Biol.*, 1935.
5. — Essai d'injections intra-veineuses de produits de la réaction ferrico-ascorbique sur des cancéreux. *C. R. Soc. Biol.*, 1935.
6. — Action sur les cancers expérimentaux et humains d'injection intra-veineuse de combinaisons de fer et de la Vitamine C. (acide l-ascorbique). Nouvelles recherches. *C. R. Soc. Biol.*, 1935.,

7. — Action favorisante sur une tumeur expérimentale, d'injections intra-veineuses d'acide l-ascorbique non associé au fer ou au cuivre. *C. R. Soc. Biol.*, 1935.
8. — Action sur la tumeur en injections intra-veineuses de produits chimiques solubles dans lesquels le fer est associé à l'acide l-ascorbique. *Acad. des Sciences*, 29 juillet 1935.
9. — Action sur les tumeurs en injection intra-veineuse de nouveaux sels solubles ferrico-ascorbiques. *Acad. des Sciences*, 21 octobre 1935.
10. — Nouvelles recherches sur les complexes organiques métalliques solubles de l'acide déhydroascorbique. Augmentation de leur effet sur les cancers par variation de métaux. *Acad. des Sciences*, 17 février 1936.
11. BANGA (L.), and SZENT GYÖRGYI (A.). — The large scale preparation of ascorbic acid from Hungarian pepper (*Capsicum Annuum*). *Biochem J.*, 1934, 28, 1625.
12. BARLOW. — Scorbut infantile. *Traité des maladies de l'enfance*, tome II, 173.
13. BÉRARD (L.), MOREL (A.), ARLOING (F.), JOSSE-RAND (A.) et PERROT (L.). — Cancers et acide ascorbique à anneau lactonique ouvert. (Effets des sels complexes ferrico-sodiques dérivés de cet acide sur certains éléments cliniques du développement néoplasique). *B. Acad. Méd.*, 28 mars 1939.
14. BEZSSONOFF (N.). — Effet sur les cobayes d'une préparation antiscorbutique. *C. R. Acad. Sc.*, 1922, 175, 846.
15. BIRCH (Tn.), HARRIS (L.-S.), and RAY (S.-N.). — Hexuronic ascorbic acid as the antiscorbutic factor and chemical determination. *Nature*, 1933, 131, 273.

16. BORSOOK (H.), DAVENPORT (H.-W.), JELFREYS (C. E. P.), WARNER (R.-C.). — *Jour. Biol. Chem.*, 1937, 117, 1.
17. BOURNE (G.). — Vitamine C in the adrenal gland. *Nature*, 1933, 131, 874.
16. COHEN (B.). — Observation on the production of experimental scurvy in the guinea pig. *Proc. Soc. Exper. Biol. and Med.*, 1918, 15, 102.
19. COHEN (B.), MENDEL (L.-B.). — Experimental scurvy of the guinea pig in relation of the diet. *J. Biol. Chem.*, 1918, 35, 425.
20. COX (E.-G.) and HIRST (E.-L.). — Constitution of vitamin C. *Nature*, 1933, 131, 402.
21. DAN (W.-J.). — Hexuronic ascorbic acid as the anti-scorbutic factor and its chemical determination. *Nature*, 1933, 131, 274.
22. DEMOLE (V.). — Vitamin und ascorbinsäure. *Stschr. für physiol. Chem.*, 1933, 217, 83.
- 22 bis. — Sur l'activité antiscorbutique de l'acide 6-désoxy-l-ascorbique. *Helvetica Chimica Acta*, 1938, 21, 277.
23. VAN EEKELEN (M.), EMMERIE (A.). — Ueber den Nachweis von Vitamin C in urin. *Klin. Wschr.*, 1936, 15, 348.
24. — *Biochem. Journ.*, 1936, 30, 35.
25. VAN EEKELEN (M.), EMMERIE (A.), WOLFF (L.-K.). — Determination of Vitamin C. in blood *Act. Brev. Neerl.*, 1933, 3, 104.
26. EMMERIE (A.) and VAN EEKELEN (M.). — The estimation of Vitamin C. by removal of interfering coloured substances. *Bioch. Journ.*, 1934, 28, 1153.
27. EMMERIE (A.). — The removal of cysteine from ascorbic acid with quicksilver acetate. *Bioch. Jour.*, 1934, 28, 268.

28. — The reducing proprieties of ascorbic acid. A coloured reaction with selenious acid and with Au Cl_3 , and the precipitation of ascorbic acid with lead acetate. *Acta. brev. Neerd.*, 1934, 4, 141.
29. VON EULER (H.). — Beobachtungen über die vitamin A und C. *Ark. Kem. Min. Geol.*, 1933, 11, 18.
30. VON EULER (H.) und MARTINS (C.). — *Nature*, 1932, 130, 888.
31. — Ueber Redukton und ascorbinsäure. *Liebig's ann. chim.*, 1933, 505, 73.
32. VON EULER (H.) und KLUSSMANN (E.). — Studien über C vitamin. *Scensk Kem. tidskr.*, 1933, 44, 290.
33. FERRAND (M.). — Etude critique de quelques dosages chimiques de l'acide ascorbique. *Thèse Doctorat en Pharmacie*, Lyon, 1936.
34. FOX (W.-F.) and LEVY (L.-F.). — Antiscorbutic activity of dehydrascorbic acid its storage and that of ascorbic acid by the guinea pig at different levels of intake. *Biochem. Journ.*, 1936, 30, 211.
35. GALLAND. — *Medical Times and Gazeth*, 1873, 196.
36. GIROUD (A.) et LEBLOND (C.-P.). — Recherches histo-chimiques sur la Vitamine C dans l'organisme. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1934, 16, 1352.
37. — Localisation histochemique de la Vitamine C dans le cortex surrénal. *C. R. Soc. Biol.*, 1934, 115, 705.
38. — Réaction des animaux carençables à des doses croissantes d'acide ascorbique. *C. R. Soc. Biol.*, 1935, 120, 967.
39. — Condition de la réaction au nitrate d'argent comme test de l'acide ascorbique. *C. R. Soc. Biol.*, 1935, 120, 967.
40. HARRIS (L.-J.) and RAY (S.-N.). — Specificity on hexuronic acid as antiscorbutic factor. *Biochem. Journ.*, 1933, 27, 387.

41. HAWORTH (W.-N.). — The constitution of ascorbic acid. *Jour. of Soc. Chem. Ind.*, 1933, 52, 482.
42. HAWORTH (W.-N.) and HIRST (E.-L.). — Dehydrascorbic acid. Ergebnisse der Vitamin und Hormonforschung herangegeben von Mellanby (London) und Ruzicka (Zurich). *Akadem Verlagsgesellschaft*, Leipzig, 1939, 2, 182.
43. — Acide ascorbique et analyses synthétiques Soc., 1934, 1, 62.
44. — *Helvetica*, 1934, 17, 520.
45. HAWORTH (W.-N.) and SZENT GYÖRGYI (A.). — *Nature*, 1933, 131, 24.
46. HERBERT (R.-W.), HIRST (E.-L.), PERCIVAL (E.-G.-V.), REYNOLDS (R.-J.) and SMITH (F.). — The constitution of ascorbic acid. *Journ. Chem. Soc.*, 1933, 1270.
47. HESS (A.-F.), UNGER (L.-J.). — Experiments on the scurvy of guinea pig. *Journ. Biol. Chem.*, 1918, 35, 479.
48. HIRST (E.-L.). — The structure of ascorbic acid. *Journ. Soc. Chem. Ind.*, 1933, 52, 221.
49. HIRST (E.-L.), PERCIVAL (E.-G.), SMITH (F.). — Constitution of ascorbic acid. *Nature*, 1933, 133, 617.
50. HIRST (E.-L.) and ZILVA (S.-S.). — Ascorbic acid as the antiscorbutic factor. *Biochem. Journ.*, 1933, 27, 1271.
51. HOLST (A.) and FROHLICH (T.). — Experimental studies relating to ship beriberi and scurvy. *Journ. of Hyg.* (Cambridge), 1907, 7, 619-634.
52. — Experimental scurvy. *Zeit. f. Hyg. und Infektionskr.*, 1912, 72, 1 ; 1913, 75, 334.
53. INGERSLEW. — *Virchow's Jahresbericht*, 1873.
54. KARRER (P.). — Les récents progrès réalisés dans l'étude des Vitamines. Synthèse de la Vitamine C. *L'actualité chimique et industrielle*, 1933, 34, 1027.

55. KARRER (P.), SALOMON (H.), SCHOPP (K.) und MORF (R.). — Zur Kenntnis des Antiskorbutischen vitamins. *Ark. Kem. Min. Geol.*, 1932, 11, 6.
56. — Zur Kenntnis des antiskorbutischen vitamins. *Biochem. Ztschr.*, 1933, 258, 4. — *Helvetica*, 1933, 16, 181.
57. — Constitution of dehydraascorbic acid. *Nature*, 1933, 131, 800.
58. KARRER (P.), SCHAEZENBACH (G.), und SCHOPP (K.). — Ueber vitamin C. *Helv. Chem. act.*, 1933, 16, 362.
59. KING (C.-G.) and WAUGH (W.-A.). — The chemical nature of vitamin C. *Science*, 1932, 72, 357.
60. LÉPINE (J.), MOREL (A.), ARLOING (F.), JOSSE RAND (A.) et PERROT (L.). — Scléroses en plaques et acide déhydrascorbique à anneau lactonique ouvert. *Bul. Acad. Med.*, 14 mars 1939.
61. LUND (H.), SPUR (B.), and FRIDERICIA (L.-S.). — The biological and titrimetric determination of vitamin C. *Biochem. Journ.*, 1934, 28, 11, 125.
62. MAC COLLUM (E.-V.), PITZ (W.). — A study of experimental scurvy. *Journ. Biol. Chem.*, 1917, 31, 229.
63. MARTINI (E.), BONSIGNORE (A.). — Nuovo metodo per la determinazione chimica dell' acido ascorbico. *Boll. Soc. Ital. Biol. Sperim.*, 1934, 9, 388 et *Biochem Ztschr.*, 1934, 273, 170.
64. MENTZER et VIALARD-GOUDOU. — Contribution à l'étude de l'acide ascorbique réduit. Remarques sur le dosage par la méthode au bleu de méthylène. *Bull. Soc. Chim. Bio.*, 1937, 19, 707.
65. MICHEEL (F.). — Zur Kenntnis des vitamins C. *Naturwissenschaft*, 1933, 21, 63.
66. — Das antiskorbutischen vitamin (C vitamin). *Fortschr. d. Med.*, 1933, 51, 452.

67. MICHEEL (F.) und KRAFT (K.). — Die Konstitution des vitamins C. *Z. P. C.*, 1933, 215, 215. — *Z. P. C.*, 1933, 216, 233. — *Z. P. C.*, 1933, 218, 280. — *Z. P. C.*, 1933, 222, 235. — *Z. P. C.*, 1933, 225, 13. — *Nature*, 1933, 131, 274.
68. MOURIQUAND (G.). — Les maladies par carence. In *Traité de Pathologie médicale et de thérapeutique appliquée*. (Le syndrome scorbutique, p. 401). Maloine, Paris, p. 385.
69. — Sur les états de précarence. *Presse Médicale*, 1^{er} févr. 1930.
70. — Les paravitaminoses. *B. Acad. Méd.*, 1938, 119, 678.
71. MOURIQUAND (G.), ARLOING (F.), MOREL (A.), JOSSE-RAND (A.), ARMAND (S.). — Limite de la manifestation du pouvoir antiscorbutique dans les sels complexes dérivés de la Vitamine C. *C. R. Soc. Biol.*, 18 janvier 1937.
72. MOURIQUAND (G.) et CŒUR (A.). — Acide ascorbique des surrénales et cadavérisation. *C. R. Soc. Biol.*, 1935, 119, 615.
73. MOURIQUAND (G.) et DAUVERGNE (M.). — Ostéopathies par carence. Evolution des ostéoses et périostéoses par avitaminose chronique. *Presse Médicale*, n° 55, 9 juillet 1938.
74. MOURIQUAND (G.), GILLET (R.), CŒUR (A.). — Contribution à l'étude des rapports nutritifs de la mère et de l'enfant. Carence maternelle et carence foétale. *Presse Médicale*, 1935, 82, 1577.
75. MOURIQUAND (G.) et MICHEL (P.). — Les états scorbutiques passagers et récidivants. *C. R. Soc. Biol.* 1921, 1, 734.
76. — Scorbut expérimental et inanition. *C. R. Soc. Biol.*, 1931, 84, 735.
77. MOURIQUAND (G.), MICHEL (P.), BARRÉ (L.). — Croissance et substance antiscorbutique. *C. R. Soc. Biol.*, 1922, 86, 1167.

78. MOURIQUAND (G.), TÊTE (H.), WENGER (G.) et VIENNOIS (P.). — Carences eutrophiques et genèse des terrains chroniquement carencés. *Presse Médicale*, n° 35, 1^{er} mai 1937.
79. — Syndrome du rhumatisme ankylosant dans l'avitaminose C partielle. *Académie des Sciences*, 8 mars 1937.
80. MOURIQUAND (G.), SCHOEN (J.). — Influence protectrice de la gestation sur la carence en vitamine C. *C. R. Acad. Sciences*, 1933, 197, 203.
81. RANDOIN (L.). — La question des vitamines. Le facteur antiscorbutique. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1923, 5, 806.
82. — Sur le degré d'activité antiscorbutique de l'acide ascorbique. *C. R. Soc. Biol.*, 1934, 116, 4.
83. RANDOIN (L.), LOPEZ-LOMBG (J.). — Etude du scorbut produit par un régime complet et biochimiquement équilibré, uniquement dépourvu de facteur C. *C. R. Ac. Sc.*, 1923, 176, 1573.
84. RANDOIN (L.), NETTER (R.). — La nature chimique de la vitamine C. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1933, 15, 275.
85. RYGH (O.) und RYGH (A.). — Ueber Narkotin und dessen Abkommlinge als Antiskorbutica. *Ztschr. f. physiol. Chem.*, 1932, 204, 114.
86. SVIRBELY (J.-L.) and SZENT GYÖRGYI (A.). — *Biochem. Journ.*, 1933, 27, 277.
87. — The chemical nature of vitamin C. *Biochem. Ztschr.*, 1933, 27, 279.
88. SZENT-GYÖRGYI (A.). — Observations on the function of peroxydase systems and the chemistry of the adrenal cortex. Description of a new carbohydrate derivate. *Biochem. Journ.*, 1928, 22, 1387.
89. — L'acide ascorbique (vitamine C). *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1933, 25, 694.

90. — Identification of vitamin C. *Nature*, 1933, 131, 225.
91. TILLMANN (J.), HIRSCH (P.) und VAUBEL (R.). — Das Reduktions-vermögen pflanzlichen Lebensmittel und seine Bezielung zum Vitamin C. Die Reindarstellung des reduzierenden Stoffs aus Hagbutten und seine Identität mit den vitamin C. *Stschr. f. Untersuch. d. Lebensmit.*, 1933, 65, 145.
92. TOZER (F.-M.). — The effect on the guinea pig of deprivation of vitamin A and the antiascorbic factor. *Journ. Pathol. and Bacteriol.* (Edinbourg), 1921, 24, 306.
93. VIENNOIS (P.). — Contribution à l'étude biochimique de la Vitamine C. *Thèse Doctorat en Pharmacie*, Lyon, 1937.
94. WEILL (E.) et MOURIQUAND (G.). — Les maladies par carence. *Revue de Médecine*, 1916, 35, 1.
95. ZILVA (S.-S.) and HIRST (E.-L.). — Ascorbic acid as antiscorbutic factor. *Biochem. Journ.*, 1933, 27, 1271.

TABLE DES MATIERES

Avant-propos	11
Introduction	13
Plan du travail	17
<i>Première partie</i>	19
CHAPITRE PREMIER : Le Scorbut.	21
CHAPITRE II : Le Scorbut expérimental.	25
CHAPITRE III : La vitamine C.	31
CHAPITRE IV : Découverte et identification de l'acide ascorbique.	33
CHAPITRE V : Constitution chimique de l'acide as- corbique	35
CHAPITRE VI : Acide déhydrascorbique	43
<i>Deuxième partie</i>	53
CHAPITRE PREMIER : Conditions générales des expé- riences	55
CHAPITRE II : Etude du pouvoir antiscorbutique du complexe A II.	61
CHAPITRE III : Etude du complexe A. A II.	67
CHAPITRE IV : Etude du pouvoir antiscorbutique des produits R A L 1037 et 1038.	73

CHAPITRE V : Etude du pouvoir antiscorbutique des produits A O B et A O B N.....	77
CHAPITRE VI : Etude du pouvoir antiscorbutique des produits A O B Juxta et A XX.....	83
Conclusions	89
Bibliographie.	91



BOSC FRÈRES, M. & L. RIOU

.. .. IMPRIMEURS-ÉDITEURS

.. 42, QUAI GAILLETON, 42 ..

.. .. LYON



